Fisa inregistrare reconstituiri controale si calibratori

Compartiment.....Material de referinta,……

Lot /Data expirarii	Data reconstituirii	Valab dupa reconstituire la congelator	Nr.flac. recons.	Data utilizarii flacoanelor	Operator

M100-S18
Vol. 28 No. 1
Replaces M100-S17
Vol. 27 No. 1

January 2008

Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Eighteenth Informational Supplement

This document provides updated tables for the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) antimicrobial susceptibility testing standards M2-A9 and M7-A7.

An informational supplement for global application developed through the Clinical and Laboratory Standards Institute consensus process.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE®
(Formerly NCCLS)

Clinical and Laboratory Standards Institute

Advancing Quality in Health Care Testing

The Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, formerly NCCLS) is an international, interdisciplinary, nonprofit, standards-developing, and educational organization that promotes the development and use of voluntary consensus standards and guidelines within the health care community. It is recognized worldwide for the application of its unique consensus process in the development of standards and guidelines for patient testing and related health care issues. Our process is based on the principle that consensus is an effective and cost-effective way to improve patient testing and health care services.

In addition to developing and promoting the use of voluntary consensus standards and guidelines, we provide an open and unbiased forum to address critical issues affecting the quality of patient testing and health care.

PUBLICATIONS

A document is published as a standard, guideline, or committee report.

Standard A document developed through the consensus process that clearly identifies specific, essential requirements for materials, methods, or practices for use in an unmodified form. A standard may, in addition, contain discretionary elements, which are clearly identified.

Guideline A document developed through the consensus process describing criteria for a general operating practice, procedure, or material for voluntary use. A guideline may be used as written or modified by the user to fit specific needs.

Report A document that has not been subjected to consensus review and is released by the Board of Directors.

CONSENSUS PROCESS

The CLSI voluntary consensus process is a protocol establishing formal criteria for:

- the authorization of a project
- the development and open review of documents
- the revision of documents in response to comments by users
- the acceptance of a document as a consensus standard or guideline.

Most documents are subject to two levels of consensus—"proposed" and "approved." Depending on the need for field evaluation or data collection, documents may also be made available for review at an intermediate consensus level.

Proposed A consensus document undergoes the first stage of review by the health care community as a proposed standard or guideline. The document should receive a wide and thorough technical review, including an overall review of its scope, approach, and utility, and a line-by-line review of its technical and editorial content.

Approved An approved standard or guideline has achieved consensus within the health care community. It should be reviewed to assess the utility of the final document, to ensure attainment of consensus (ie, that comments on earlier versions have been satisfactorily addressed), and to identify the need for additional consensus documents.

Our standards and guidelines represent a consensus opinion on good practices and reflect the substantial agreement by materially affected, competent, and interested parties obtained by following CLSI's established consensus procedures. Provisions in CLSI standards and guidelines may be more or less stringent than applicable regulations. Consequently, conformance to this voluntary consensus document does not relieve the user of responsibility for compliance with applicable regulations.

COMMENTS

The comments of users are essential to the consensus process. Anyone may submit a comment, and all comments are addressed, according to the consensus process, by the committee that wrote the document. All comments, including those that result in a change to the document when published at the next consensus level and those that do not result in a change, are responded to by the committee in an appendix to the document. Readers are strongly encouraged to comment in any form and at any time on any document. Address comments to Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087, USA.

VOLUNTEER PARTICIPATION

Health care professionals in all specialties are urged to volunteer for participation in CLSI projects. Please contact us at customerservice@clsi.org or +610.688.0100 for additional information on committee participation.

Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Eighteenth Informational Supplement

Abstract

The supplemental information presented in this document is intended for use with the antimicrobial susceptibility testing procedures published in the following Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) approved standards: M2-A9—*Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Ninth Edition*; and M7-A7—*Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Seventh Edition*. The standards contain information about both disk (M2) and dilution (M7) test procedures for aerobic bacteria.

Clinicians depend heavily on information from the clinical microbiology laboratory for treatment of their seriously ill patients. The clinical importance of antimicrobial susceptibility test results requires that these tests be done under optimal conditions and that laboratories have the capability to provide results for the newest antimicrobial agents.

The tabular information presented here represents the most current information for drug selection, interpretation, and quality control using the procedures standardized in M2 and M7. Users should replace the tables published earlier with these new tables. (Changes in the tables since the most current edition appear in boldface type.)

Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Eighteenth Informational Supplement.* CLSI document M100-S18 (ISBN 1-56238-653-0). Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2008.

The data in the interpretive tables in this supplement are valid only if the methodologies in M2-A9—*Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Ninth Edition*; and M7-A7—*Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Seventh Edition* are followed.

M100-S18
ISBN 1-56238-653-0
ISSN 0273-3099

Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Eighteenth Informational Supplement

Volume 28 Number 1

Matthew A. Wikler, MD, MBA, FIDSA
Karen Bush, PhD
Franklin R. Cockerill, III, MD
Michael N. Dudley, PharmD
George M. Eliopoulos, MD
Dwight J. Hardy, PhD
David W. Hecht, MD
Janet F. Hindler, MCLS, MT(ASCP)
Jean B. Patel, PhD, D(ABMM)
Mair Powell, MD, FRCP, FRCPath
John D. Turnidge, MD
Melvin P. Weinstein, MD
Barbara L. Zimmer, PhD

Mary Jane Ferraro, PhD, MPH
Jana M. Swenson, MMSc

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE®
(Formerly NCCLS)

Copyright ©2008 Clinical and Laboratory Standards Institute. Except as stated below, neither this publication nor any portion thereof may be adapted, copied, or otherwise reproduced, by any means (electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise) without prior written permission from Clinical and Laboratory Standards Institute ("CLSI").

CLSI hereby grants permission to each individual member or purchaser to make a single reproduction of this publication for use in its laboratory procedure manual at a single site. To request permission to use this publication in any other manner, contact the Executive Vice President, Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA.

Suggested Citation

(CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Eighteenth Informational Supplement.* CLSI document M100-S18. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.)

Eighteenth Informational Supplement
January 2008

Seventeenth Informational Supplement
January 2007

Sixteenth Informational Supplement
January 2006

Fifteenth Informational Supplement
January 2005

Fourteenth Informational Supplement
January 2004

Thirteenth Informational Supplement
January 2003

Twelfth Informational Supplement
January 2002

Eleventh Informational Supplement
January 2001

Tenth Informational Supplement
January 2000

Ninth Informational Supplement
January 1999

ISBN 1-56238-653-0
ISSN 0273-3099

Committee Membership

Area Committee on Microbiology

Mary Jane Ferraro, PhD, MPH
Chairholder
Massachusetts General Hospital
Boston, Massachusetts

James H. Jorgensen, PhD
Vice-Chairholder
University of Texas Health Science Center
San Antonio, Texas

Donald R. Callihan, PhD
BD Diagnostic Systems
Sparks, Maryland

Freddie Mae Poole
FDA Center for Devices and Radiological Health
Rockville, Maryland

John H. Rex, MD, FACP
AstraZeneca
Cheshire, United Kingdom

Daniel F. Sahm, PhD
Focus Bio-Inova, Inc.
Herndon, Virginia

Fred C. Tenover, PhD, ABMM
Centers for Disease Control and Prevention
Atlanta, Georgia

John D. Turnidge, MD
Women's and Children's Hospital
North Adelaide, Australia

Michael L. Wilson, MD
Denver Health Medical Center
Denver, Colorado

Advisors

Ellen Jo Baron, PhD
Stanford Univ. Hospital & Medical School
Stanford, California

Lynne S. Garcia, MS
LSG & Associates
Santa Monica, California

Richard L. Hodinka, PhD
Children's Hospital of Philadelphia
Philadelphia, Pennsylvania

Michael A. Pfaller, MD
University of Iowa College of Medicine
Iowa City, Iowa

Robert P. Rennie, PhD
University of Alberta Hospital
Edmonton, Alberta, Canada

Jana M. Swenson, MMSc
Centers for Disease Control and Prevention
Atlanta, Georgia

Melvin P. Weinstein, MD
Robert Wood Johnson Medical School
New Brunswick, New Jersey

Matthew A. Wikler, MD, MBA, FIDSA
Pacific Beach BioSciences, Inc.
San Diego, California

Gail L. Woods, MD
University of Arkansas for Medical Sciences
Little Rock, Arkansas

Subcommittee on Antimicrobial Susceptibility Testing

Matthew A. Wikler, MD, MBA, FIDSA
Chairholder
Pacific Beach BioSciences, Inc.
San Diego, California

Karen Bush, PhD
Johnson & Johnson Pharmaceutical Research Institute
Raritan, New Jersey

Franklin R. Cockerill, III, MD
Mayo Clinic/Mayo Foundation
Rochester, Minnesota

Michael N. Dudley, PharmD
Mpex Pharmaceuticals
San Diego, California

George M. Eliopoulos, MD
Beth Israel Deaconess Medical Center
Boston, Massachusetts

Dwight J. Hardy, PhD
University of Rochester Medical Center
Rochester, New York

David W. Hecht, MD
Loyola University Medical Center
Maywood, Illinois

Janet F. Hindler, MCLS, MT(ASCP)
UCLA Medical Center
Los Angeles, California

Jean B. Patel, PhD, D(ABMM)
Centers for Disease Control and Prevention
Atlanta, Georgia

Mair Powell, MD, FRCP, FRCPath
MHRA
London, United Kingdom

John D. Turnidge, MD
Women's and Children's Hospital
North Adelaide, Australia

Melvin P. Weinstein, MD
Robert Wood Johnson Medical School
New Brunswick, New Jersey

Barbara L. Zimmer, PhD
Dade Behring MicroScan
West Sacramento, California

Advisors

Paul G. Ambrose, PharmD, FIDSA
Orway Research Institute
Albany, New York

Patricia A. Bradford, PhD
Wyeth Research
Pearl River, New York

Steven D. Brown, PhD
The Clinical Microbiology Institute
Wilsonville, Oregon

Karen Carroll, MD
Johns Hopkins Medical Institutions
Baltimore, Maryland

Edward M. Cox, Jr., MD, MPH
FDA Center for Drug Evaluation and Research
Rockville, Maryland

Advisors (Continued)

William A. Craig, MD
University of Wisconsin
Madison, Wisconsin

Lawrence V. Friedrich, PharmD
Cubist Pharmaceuticals
Mt. Pleasant, South Carolina

Yoichi Hirakata, MD, PhD
Nagasaki University School of Medicine and Dentistry
Nagasaki, Japan

Ronald N. Jones, MD
JMI Laboratories
North Liberty, Iowa

Gunnar Kahlmeter, MD, PhD
ESCMID
Växjö, Sweden

Frederic J. Marsik, PhD, ABMM
FDA Center for Drug Evaluation and Research
Rockville, Maryland

John E. McGowan, Jr., MD
Emory University, Rollins School of Public Health
Atlanta, Georgia

Linda A. Miller, PhD
GlaxoSmithKline
Collegeville, Pennsylvania

Janice Pohlman, MD, MPH
FDA Center for Drug Evaluation & Research
Silver Spring, Maryland

Sandra S. Richter, MD, D(ABMM)
University of Iowa Carver College of Medicine
Iowa City, Iowa

Flavia Rossi, MD
University of Sao Paulo
Sao Paulo, Brazil

Dale A. Schwab, PhD, D(ABMM)
Quest Diagnostics, Nichols Institute
San Juan Capistrano, California

Daniel J. Sheehan, PhD
Pfizer Inc.
New York, New York

Jana M. Swenson, MMSc
Centers for Disease Control and Prevention
Atlanta, Georgia

George H. Talbot, MD
Talbot Advisors LLC
Wayne, Pennsylvania

Fred C. Tenover, PhD, ABMM
Centers for Disease Control and Prevention
Atlanta, Georgia

Richard B. Thomson, Jr., PhD
Northwestern University, Feinberg School of Medicine
Evanston, Illinois

Fredricka Valentine
FDA Center for Devices and Radiological Health
Rockville, Maryland

Staff

Clinical and Laboratory Standards Institute
Wayne, Pennsylvania

Lois M. Schmidt, DA
Vice President, Standards Development and Marketing

Tracy A. Dooley, BS, MLT(ASCP)
Staff Liaison

Melissa A. Lewis
Editor

Contents

Abstract 1

Committee Membership 5

Updated Information in This Edition 11

Subcommittee on Antimicrobial Susceptibility Testing Mission Statement 16

M2-A9 *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Ninth Edition*

Introduction to Tables 1 and 2 for Use With M2-A9 (Disk Diffusion) and M7-A7 (MIC Testing) 17

Table 1. Suggested Groupings of Antimicrobial Agents With FDA Clinical Indications That Should Be Considered for Routine Testing and Reporting on Nonfastidious Organisms by Clinical Microbiology Laboratories in the United States 24

Table 1A. Suggested Groupings of Antimicrobial Agents With FDA Clinical Indications That Should Be Considered for Routine Testing and Reporting on Fastidious Organisms by Clinical Microbiology Laboratories in the United States 30

Tables 2A-2J. Zone Diameter Interpretive Standards and Equivalent Minimal Inhibitory Concentration (MIC) Breakpoints for:

2A. Enterobacteriaceae 34

2B-1. *Pseudomonas aeruginosa* 40

2B-2. *Acinetobacter* spp. 42

2B-3. *Burkholderia cepacia* 44

2B-4. *Stenotrophomonas maltophilia* 45

2C. *Staphylococcus* spp. 46

2D. *Enterococcus* spp. 54

2E. *Haemophilus influenzae* and *H. parainfluenzae*. 58

2F. *Neisseria gonorrhoeae* 62

2G. *Streptococcus pneumoniae* 66

2H-1. *Streptococcus* spp. Beta-hemolytic group 68

2H-2. *Streptococcus* spp. Viridans group 72

2I. *Vibrio cholerae* 74

2J. *Neisseria meningitidis* 76

Contents (Continued)

Table 3. Acceptable Limits for Quality Control Strains Used to Monitor Accuracy of Disk Diffusion Testing of Nonfastidious Organisms (Using Mueller-Hinton Medium Without Blood or Other Supplements) 78

Table 3A. Acceptable Limits for Quality Control Strains Used to Monitor Accuracy of Disk Diffusion Testing of Fastidious Organisms 80

Table 3B. Reference Guide to Quality Control Testing Frequency 82

Table 3C. Disk Diffusion QC Troubleshooting Guide 84

M7-A7 *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Seventh Edition*

Table 1. Suggested Groupings of Antimicrobial Agents With FDA Clinical Indications That Should Be Considered for Routine Testing and Reporting on Nonfastidious Organisms by Clinical Microbiology Laboratories in the United States. 86

Table 1A. Suggested Groupings of Antimicrobial Agents With FDA Clinical Indications That Should Be Considered for Routine Testing and Reporting on Fastidious Organisms by Clinical Microbiology Laboratories in the United States. 92

Table 1B. Antimicrobial Agents That Should Be Tested and Reported on Potential Agents of Bioterrorism 96

Tables 2A-2L. MIC Interpretive Standards (μg/mL) for:

2A. Enterobacteriaceae 98

2B-1. *Pseudomonas aeruginosa* 102

2B-2. *Acinetobacter* spp. 104

2B-3. *Burkholderia cepacia* 106

2B-4. *Stenotrophomonas maltophilia* 107

2B-5. Other Non-Enterobacteriaceae 108

2C. *Staphylococcus* spp. 110

2D. *Enterococcus* spp. 116

2E. *Haemophilus influenzae* and *H. parainfluenzae* 120

2F. *Neisseria gonorrhoeae* 124

2G. *Streptococcus pneumoniae* 126

2H-1. *Streptococcus* spp. Beta-hemolytic group 130

Contents (Continued)

2H-2. *Streptococcus* spp. Viridans group 134

2I. *Vibrio cholerae* 136

2J. *Helicobacter pylori* 137

2K. *Bacillus anthracis, Yersinia pestis, Burkholderia mallei, Burkholderia pseudomallei, Francisella tularensis,* and *Brucella* spp. 138

2L. *Neisseria meningitidis* 140

Table 3. Acceptable Limits for Quality Control Strains Used to Monitor Accuracy of Minimal Inhibitory Concentrations (MICs) (μg/mL) of Nonfastidious Organisms (Using Mueller-Hinton Medium [Cation-Adjusted if Broth] Without Blood or Other Nutritional Supplements) 142

Table 3A. Acceptable Limits for Quality Control Strains Used to Monitor Accuracy of Minimal Inhibitory Concentrations (MICs) (μg/mL) of Fastidious Organisms 144

Table 3B. Acceptable Limits for Quality Control Strains Used to Monitor Accuracy of Minimal Inhibitory Concentrations (MICs) (μg/mL) of Fastidious Organisms Using Agar Dilution 146

Table 3C. Acceptable Limits for Quality Control Strains Used to Monitor Accuracy of Minimal Inhibitory Concentrations (MICs) (μg/mL) Generated in Cation-Adjusted Mueller-Hinton Broth + 2% Defined Growth Supplement 147

Table 3D. Acceptable Limits for Quality Control Strains Used to Monitor Accuracy of Minimal Inhibitory Concentrations (MICs) (μg/mL) Using Brucella Broth Media Without Supplements Adjusted to pH 7.1 ± 0.1 148

Table 3E. Reference Guide to Quality Control Testing Frequency 149

Table 3F. MIC QC Troubleshooting Guide 150

Table 4. Solvents and Diluents for Preparation of Stock Solutions of Antimicrobial Agents 154

Table 4A. Preparation of Stock Solutions for Antimicrobial Agents Provided With Activity Expressed as Units. 157

Table 5. Scheme for Preparing Dilutions of Antimicrobial Agents to Be Used in Agar Dilution Susceptibility Tests 158

Table 6. Scheme for Preparing Dilutions of Antimicrobial Agents to Be Used in Broth Dilution Susceptibility Tests 159

Table 6A. Scheme for Preparing Dilution Series of Water-Insoluble Agents to Be Used in Broth Dilution Susceptibility Tests 160

Appendix A. Screening and Confirmatory Tests for ESBLs in *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca, Escherichia coli,* and *Proteus mirabilis* 162

Contents (Continued)

Appendix B. Screening Tests for Beta-Lactamase Production, Oxacillin Resistance, *mec*A-Mediated Oxacillin Resistance Using Cefoxitin, Reduced Susceptibility to Vancomycin, and Inducible Clindamycin Resistance in *Staphylococcus aureus* Group 164

Appendix C. Screening Tests for Beta-Lactamase, *mec*A-Mediated Oxacillin Resistance Using Cefoxitin, and Inducible Clindamycin Resistance in Coagulase-Negative Staphylococci (except *Staphylococcus lugdunensis)*..... 166

Appendix D. Screening Tests for High-Level Aminoglycoside Resistance (HLAR) and Vancomycin Resistance in *Enterococcus* spp. 168

Appendix E. Suggestions for Verification of Antimicrobial Susceptibility Test Results and Confirmation of Organism Identification 170

Glossary I (Part 1). ß-lactams: Class and Subclass Designation and Generic Name 172

Glossary I (Part 2). Non-ß-lactams: Class and Subclass Designation and Generic Name 173

Glossary II. Abbreviations/Routes of Administration/Drug Class for Antimicrobial Agents Listed in M100-S18 174

Glossary III. List of Identical Abbreviations Used for More Than One Antimicrobial Agent in US Diagnostic Products 177

Summary of Comments and Subcommittee Responses 178

Related CLSI Reference Materials 179

The Clinical and Laboratory Standards Institute consensus process, which is the mechanism for moving a document through two or more levels of review by the health care community, is an ongoing process. Users should expect revised editions of any given document. Because rapid changes in technology may affect the procedures, methods, and protocols in a standard or guideline, users should replace outdated editions with the current editions of CLSI/NCCLS documents. Current editions are listed in the CLSI catalog and posted on our website at www.clsi.org. If your organization is not a member and would like to become one, and to request a copy of the catalog, contact us at: Telephone: +610.688.0100; Fax: +610.688.0700; E-mail: customerservice@clsi.org; Website: www.clsi.org.

Updated Information in This Edition

This document includes all of the tables from the Clinical and Laboratory Standards Institute Disk Diffusion (M2) susceptibility testing and Aerobic Dilution (M7) susceptibility testing documents. There are several important changes to the tables that have resulted from meetings of the Subcommittee on Antimicrobial Susceptibility Testing during 2007. Included below is a summary of the changes in this document, which supersede the tables published in 2007 and in earlier years.

Summary of Major Changes in This Document

This list includes the "major" changes in this document. Other minor or editorial changes have been made to the general formatting and to some of the table footnotes. Boldface type is used to highlight the changes in each table.

Additions/Changes/Deletions

The following are additions or changes unless otherwise noted as a "***deletion.***"

Text Box:
Added information for implementing newly approved or revised breakpoints (p. 15)

New list of abbreviations (p. 22)

Drugs Recommended for Testing and Reporting

Tables 1 and 1A: (M2, pp. 24 and 30; and M7, pp. 86 and 92)
Deleted the following antimicrobial agents from Tables 1 and 1A:

Carbenicillin	Kanamycin
Cefamandole	Loracarbef
Cefmetazole	Mezlocillin
Cefonicid	Netilmicin
Cefoperazone	Sparfloxacin
Cefotetan	Spectinomycin
Ceftizoxime	Ticarcillin (except for *P. aeruginosa* – goes from Group A to B)
Cinoxacin	
Gatifloxacin	

Table 1: (M2, p. 24 and M7, p. 86)
Enterobacteriaceae: (M2 and M7)
Tobramycin moved from Group B to A

Non-Enterobacteriaceae: (M7 only)
Deleted "and Other Non-Enterobacteriaceae" from *Pseudomonas aeruginosa* column heading
Added new column for Other Non-Enterobacteriaceae

P. aeruginosa **(**M2 and M7)
Ticarcillin moved from Group A to B
Tobramycin moved from Group B to A

Acinetobacter **spp.** (M2 and M7)
Ampicillin-sulbactam, ciprofloxacin, levofloxacin, gentamicin, and tobramycin moved from Test/Report Group B to Group A.

Added note indicating MIC testing for colistin and polymyxin B (M2 only)

***Staphylococcus* spp.** (M2 and M7)
Trimethoprim-sulfamethoxazole, clindamycin, azithromycin, clarithromycin, and erythromycin moved from Group B to A
Tetracycline and rifampin moved from Group C to B
Added daptomycin to Test/Report Group B, noting that it can be tested by MIC methods only (M2 only)

***Enterococcus* spp.** (M2 and M7)
Deleted the following from Test/Report Group C:

Chloramphenicol
Erythromycin
Tetracycline
Rifampin
(These agents may be tested for VRE.)
Added daptomycin to Test/Report Group B, noting that it can be tested by MIC methods only (M2 only)

Table 1A: (M2, p. 30 and M7, p. 92)
Streptococcus* spp. Other than *Streptococcus pneumoniae
Separated into two columns - *Streptococcus* spp. Beta-hemolytic group and *Streptococcus* spp. Viridans group.
Added footnote to indicate organisms included in each *Streptococcus* group.
Added daptomycin to Test/Report Group C for *Streptococcus* spp. beta-hemolytic group, noting that it can be tested by MIC methods only (M2 only)

Table 1B: (M7, p. 96)
Deleted "or" designations for some pairs or groups of antimicrobial agents based on modified recommendations for testing and reporting of drugs within a box
Deleted comment for reporting organisms that are intermediate or resistant to tetracycline

Interpretive Criteria

Enterobacteriaceae (Table 2A): (M2, p. 34 and M7, p. 98)
Added comment to carbapenem box for detecting carbapenamases

Other Non-Enterobacteriaceae: (M7, p. 108)
Added New Table 2B-5

***Staphylococcus* spp. (Table 2C):** (M2, p. 46 and M7, p. 110)

Clarified comment regarding hazy growth within the zone of inhibition around the clindamycin disk for detecting inducible clindamycin resistance
Added comment for reading linezolid, disk diffusion tests (M2 only)
Added recommendations for a broth microdilution MIC test for inducible clindamycin resistance where erythromycin and clindamycin are tested together in a single well (M7 only)
Revised cefoxitin MIC interpretive criteria to predict the presence of *mec*A-mediated resistance in *S. aureus* and *S. lugdunensis* (M7 only)

***Streptococcus pneumoniae* (Table 2G):** (M7, p. 126)
Penicillin interpretive criteria modified and separated into three categories: meningitis, nonmeningitis, and penicillin V (oral)
Deleted words axetil and sodium from cefuroxime listing

Potential Agents of Bioterrorism (Table 2K): (M7, p. 138)
Deleted comment for reporting organisms that are intermediate or resistant to tetracycline
Modified interpretive criteria for ciprofloxacin for *B. anthracis*
Added interpretive criteria for levofloxacin for *B. anthracis*
Modified interpretive criteria for ciprofloxacin for *Y. pestis*
Added interpretive criteria for levofloxacin for *Y. pestis*

Added comment for measuring the diameter of the zones of inhibition with specific recommendations for certain antimicrobial agents to the following tables:
***Enterobacteriaceae* (Table 2A)** (M2, p. 34)
***Pseudomonas aeruginosa* (Table 2B-1)** (M2, p. 40)
***Acinetobacter* spp. (Table 2B-2)** (M2, p. 42)
***Burkholderia cepacia* (Table 2B-3)** (M2, p. 44)
***Staphylococcus* spp. (Table 2C)** (M2, p. 46)
***Enterococcus* spp. (Table 2D)** (M2, p. 54)
***Haemophilus influenzae* and *H. parainfluenzae* (Table 2E)** (M2, p. 58)
***Neisseria gonorrhoeae* (Table 2F)** (M2, p. 62)
***Streptococcus pneumoniae* (Table 2G)** (M2, p. 66)
***Streptococcus* spp. beta-hemolytic group (New Table 2H-1)** (M2, p. 68)
***Streptococcus* spp. viridans group (New Table 2H-2)** (M2, p. 72)
***Vibrio cholerae* (Table 2I)** (M2, p. 74)
***Neisseria meningitidis* (Table 2J)** (M2, p. 76)

Quality Control

QC Ranges Changes/Additions (Table 3): (M7 only, p. 142)
Oritavancin – *Staphylococcus aureus* ATCC® 29213
Enterococcus faecalis ATCC® 29212

Added recommendations for quality control of a broth microdilution MIC test for inducible clindamycin resistance

QC Ranges Changes/Additions (Table 3A): (M7 only, p. 144)
Oritavancin – *Streptococcus pneumoniae* ATCC® 49619

QC Ranges Changes/Additions (Table 3B): (M7 only, p. 146)
Moxifloxacin – *Neisseria gonorrhoeae* ATCC® 49226

Solvents and Diluents for Preparation of Stock Solutions of Antimicrobial Agents Changes/Additions (M7; Table 4): (M7, p. 154)
New footnote regarding preparation of starting stock solutions of oritavancin

Tables, Appendixes, and Glossaries

New Appendix A: Screening and Confirmatory Tests for ESBLs in *Klebsiella pneumoniae, K. oxytoca, Escherichia coli,* and *Proteus mirabilis*

New Appendix B: Screening Tests for Beta-Lactamase Production, Oxacillin Resistance, *mec*A-Mediated Oxacillin Resistance Using Cefoxitin, Reduced Susceptibility to Vancomycin, and Inducible Clindamycin Resistance in *Staphylococcus aureus* Group

New Appendix C: Screening Tests for Beta-Lactamase, *mec*A-Mediated Oxacillin Resistance Using Cefoxitin, and Inducible Clindamycin Resistance in Coagulase-Negative Staphylococci (except *Staphylococcus lugdunensis*)

New Appendix D: Screening Tests for High-Level Aminoglycoside Resistance (HLAR) and Vancomycin Resistance in *Enterococcus* spp.

New Appendix E: Suggestions for Verification of Antimicrobial Susceptibility Test Results and Confirmation of Organism Identification (Previously Glossary III in M100-S17)

Glossaries I, II, and III Changes/Additions:
Oritavancin - changed antimicrobial subclass from glycopeptide to lipoglycopeptide
Ceftaroline and ceftobiprole listed in a separate box with no subclass designation

It is important for users of M2-A9, M7-A7, and the M100 Informational Supplement to recognize that the standard methods described in CLSI documents are reference methods. These methods may be used for routine antimicrobial susceptibility testing of clinical isolates, for evaluation of commercial devices that will be used in clinical laboratories, or by drug or device manufacturers for testing of new agents or systems. Results generated by reference methods, such as those contained in CLSI documents, may be used by regulatory authorities to evaluate the performance of commercial susceptibility testing devices as part of the approval process. Clearance by a regulatory authority indicates that the commercial susceptibility testing device provides susceptibility results that are substantially equivalent to results generated using reference methods for the organisms and antimicrobial agents described in the device manufacturer's approved package insert.

CLSI breakpoints may differ from those approved by various regulatory authorities for many reasons, including the following: different databases, differences in interpretation of data, differences in doses utilized in different parts of the world, and public health policies. Differences also exist because CLSI proactively evaluates the need for changing breakpoints. The reasons why breakpoints may change and the manner in which CLSI evaluates data and determines breakpoints are outlined in CLSI document M23—*Development of* In Vitro *Susceptibility Testing Criteria and Quality Control Parameters*.

Following a decision by CLSI to change an existing breakpoint, regulatory authorities may also review data in order to determine how changing breakpoints may affect the safety and effectiveness of the antimicrobial agent for the approved indications. If the regulatory authority changes breakpoints, commercial device manufacturers may have to conduct a clinical laboratory trial, submit the data to the regulatory authority, and await review and approval. For these reasons, a delay of more than the suggested CLSI "tentative" period of one year may be required if an interpretive breakpoint change is to be implemented by a device manufacturer. In the United States, laboratories that use FDA-approved susceptibility testing devices are allowed to utilize existing FDA interpretive breakpoints. Either FDA or CLSI susceptibility interpretive breakpoints are acceptable to clinical laboratory accrediting bodies. Policies in other countries may vary.

Following discussions with appropriate stakeholders such as infectious disease practitioners and the pharmacy department, as well as the Pharmacy and Therapeutics and Infection Control committees of the medical staff, newly approved or revised breakpoints may be implemented by clinical laboratories. CLSI disk diffusion test breakpoints may be implemented as soon as they are published in M100. If a device includes antimicrobial test concentrations sufficient to allow interpretation of susceptibility to an agent using the CLSI breakpoints, a laboratory could, after appropriate validation, choose to interpret and report results using CLSI breakpoints.

Subcommittee on Antimicrobial Susceptibility Testing Mission Statement

The Subcommittee on Antimicrobial Susceptibility Testing is composed of representatives from the professions, government, and industry, including microbiology laboratories, government agencies, health care providers and educators, and pharmaceutical and diagnostic microbiology industries. Using the CLSI voluntary consensus process, the subcommittee develops standards that promote accurate antimicrobial susceptibility testing and appropriate reporting.

The mission of the Subcommittee on Antimicrobial Susceptibility Testing is to:

- Develop standard reference methods for antimicrobial susceptibility tests.
- Provide quality control parameters for standard test methods.
- Establish interpretive criteria for the results of standard antimicrobial susceptibility tests.
- Provide suggestions for testing and reporting strategies that are clinically relevant and cost-effective.
- Continually refine standards and optimize the detection of emerging resistance mechanisms through the development of new or revised methods, interpretive criteria, and quality control parameters.
- Educate users through multimedia communication of standards and guidelines.
- Foster a dialogue with users of these methods and those who apply them.

The ultimate purpose of the subcommittee's mission is to provide useful information to enable laboratories to assist the clinician in the selection of appropriate antimicrobial therapy for patient care. The standards and guidelines are meant to be comprehensive and to include all antimicrobial agents for which the data meet established CLSI guidelines. The values that guide this mission are quality, accuracy, fairness, timeliness, teamwork, consensus, and trust.

Introduction to Tables 1 and 2 for Use With M2-A9 (Disk Diffusion) and M7-A7 (MIC Testing)

On the following pages, you will find:

1. Tables 1, 1A **(M2 and M7),** and 1B (M7 only)—Suggested groupings of antimicrobial agents that should be considered for routine testing and reporting by clinical microbiology laboratories. These guidelines are based on drugs with clinical indications approved by the Food and Drug Administration (FDA) in the United States. In other countries, placement of antimicrobial agents in Tables 1, 1A, and 1B should be based on available drugs approved for clinical use by relevant regulatory agencies.

2. For each organism group, an additional table (Tables 2A through 2J [M2] and 2A through 2L [M7]) that contains:
   a. Recommended testing conditions.
   b. Minimal QC recommendations. (See also the text documents M2-A9, Section 15 and M7-A7, Section 16.)
   c. General comments for testing the organism group and specific comments for testing particular drug/organism combinations.
   d. Suggested agents that should be considered for routine testing and reporting by clinical microbiology laboratories as specified in Tables 1, 1A, and 1B (test/report groups A, B, C, U; the latter for "urine").
   e. Additional drugs that have an approved indication for the respective organism group, but would generally not warrant routine testing by a clinical microbiology laboratory in the United States (test/report group O for "other"; test/report group Inv. for "investigational" [not yet FDA approved]).
   f. For M2, zone diameter interpretive criteria and equivalent MIC breakpoints, and for M7, minimal inhibitory concentration (MIC) interpretive criteria. For M2, the equivalent MIC values represent MIC breakpoints used in determining approximate zone diameter interpretive criteria. They relate to MICs determined by M7 methodology. Occasional discrepancies may exist between M2 and M7 due to methodological limitations.

I. Selecting Antimicrobial Agents for Testing and Reporting

A. Selection of the most appropriate antimicrobial agents to test and to report is a decision best made by each clinical laboratory in consultation with the infectious disease practitioners and the pharmacy, as well as the pharmacy and therapeutics and infection control committees of the medical staff. The recommendations here for each organism group comprise agents of proven efficacy that show acceptable *in vitro* test performance. Considerations in the assignment of agents to specific test/report groups include clinical efficacy, prevalence of resistance, minimizing emergence of resistance, cost, FDA clinical indications for usage, and current consensus recommendations for first-choice and alternative drugs, in addition to the specific issues described. Tests of selected agents may be useful for infection control purposes.

B. The listing of drugs together in a single box designates clusters of agents for which interpretive results (susceptible, intermediate, or resistant) and clinical efficacy are similar. Therefore, only one of the agents within each box need be selected for testing. Within each box, an "or" between agents designates those agents for which cross-resistance and cross-susceptibility are nearly complete. This means combined major and very major errors are fewer than 3% and minor errors are fewer than 10%, based on a large population of bacteria tested. In addition, to qualify for an "or," at least 100 strains with resistance to the agents in question must be tested and a result of "resistant" must be obtained with all agents for at least 95% of the strains. "Or" is also used for

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

comparable antimicrobial agents when tested against organisms for which "susceptible-only" interpretive criteria are provided (eg, cefotaxime or ceftriaxone with *Haemophilus influenzae*). Thus, results from one agent connected by an "or" could be used to predict results for the other agent (eg, a non-ESBL-producing isolate of Enterobacteriaceae susceptible to cefotaxime can be considered susceptible to ceftriaxone). The agents reported should be the agents tested, unless reporting based on testing another agent provides a more accurate result (eg, susceptibility of staphylococci to oxacillin based on cefoxitin testing), and they usually should match those included in the hospital formulary. Unexpected resistance should be reported (eg, resistance of Enterobacteriaceae to carbapenems).

C. Test/Report Groups

1. As listed in Tables 1, 1A, and 1B, agents in **Group A** are considered appropriate for inclusion in a routine, primary testing panel, as well as for routine reporting of results for the specific organism groups.

2. **Group B** comprises agents that may warrant primary testing. However, they may be reported only selectively, such as when the organism is resistant to agents of the same class, as in Group A. Other indications for reporting the result might include a selected specimen source (eg, a third-generation cephalosporin for enteric bacilli from cerebrospinal fluid [CSF] or trimethoprim-sulfamethoxazole for urinary tract isolates); a polymicrobial infection; infections involving multiple sites; cases of patient allergy, intolerance, or failure to respond to an agent in Group A; or for purposes of infection control.

3. **Group C** comprises alternative or supplemental antimicrobial agents that may require testing in those institutions that harbor endemic or epidemic strains resistant to several of the primary drugs (especially in the same class, eg, β-lactams); for treatment of patients allergic to primary drugs; for treatment of unusual organisms (eg, chloramphenicol for extraintestinal isolates of *Salmonella* spp.); or for reporting to infection control as an epidemiologic aid.

4. **Group U ("urine")** lists certain antimicrobial agents (eg, nitrofurantoin and certain quinolones) that are used only or primarily for treating urinary tract infections. These agents should not be routinely reported against pathogens recovered from other sites of infection. Other agents with broader indications may be included in Group U for specific urinary pathogens (eg, *P. aeruginosa*).

5. **Group O ("other")** includes agents that have a clinical indication for the organism group, but are generally not candidates for routine testing and reporting in the United States.

6. **Group Inv. ("investigational")** includes agents that are investigational for the organism group and have not yet been approved by the FDA.

D. Selective Reporting

Each laboratory should decide which agents in the tables to report routinely (Group A) and which might be reported only selectively (from Group B), in consultation with the infectious disease practitioners and the pharmacy, as well as the pharmacy and the therapeutics and infection control committees of the medical staff of the hospital. Selective reporting should help improve the clinical relevance of test reports and help minimize the selection of multiresistant nosocomial strains by overuse of broad-spectrum agents. Results for Group B agents not reported routinely

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

should be available on request, or they may be reported for selected specimens. Unexpected resistance, when confirmed, should be reported (eg, resistance to a secondary agent but susceptibility to a primary agent).

II. Reporting Results

The MIC values determined as described in M7-A7 may be reported directly to clinicians for patient-care purposes. However, it is essential for an understanding of the data by all clinicians that an interpretive category result also be provided routinely. Recommended interpretive categories for various MIC values are included in tables for each organism group and are based on evaluation data as described in CLSI/NCCLS document M23—*Development of* In Vitro *Susceptibility Testing Criteria and Quality Control Parameters*.

Recommended interpretive criteria are based on usual dosage regimens and routes of administration in the United States.

A. Susceptible, intermediate, or resistant interpretations are reported and defined as follows:

1. Susceptible (S)

The "susceptible" category implies that isolates are inhibited by the usually achievable concentrations of antimicrobial agent when the recommended dosage is used for the site of infection.

2. Intermediate (I)

The "intermediate" category includes isolates with antimicrobial agent MICs that approach usually attainable blood and tissue levels and for which response rates may be lower than for susceptible isolates. The intermediate category implies clinical efficacy in body sites where the drugs are physiologically concentrated (eg, quinolones and β-lactams in urine) or when a higher than normal dosage of a drug can be used (eg, β-lactams). This category also includes a buffer zone, which should prevent small, uncontrolled, technical factors from causing major discrepancies in interpretations, especially for drugs with narrow pharmacotoxicity margins.

3. Resistant (R)

The "resistant" category implies that isolates are not inhibited by the usually achievable concentrations of the agent with normal dosage schedules, and/or that demonstrate MICs or zone diameters that fall in the range where specific microbial resistance mechanisms (eg, β-lactamases) are likely, and clinical efficacy of the agent against the isolate has not been reliably shown in treatment studies.

If only "S" criteria are specified:

For some organism/antimicrobial combinations, the absence or rare occurrence of resistant strains precludes defining any results categories other than "susceptible." For strains yielding results suggestive of a "nonsusceptible" category, organism identification and antimicrobial susceptibility test results should be confirmed. Subsequently, the isolates should be saved and submitted to a reference laboratory that will confirm results using a CLSI reference dilution method.

B. For some organism groups excluded from Tables 2A through 2L, the CLSI guideline M45—*Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria* provides suggestions for standardized methods for susceptibility testing,

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

including information about drug selection, interpretation, and quality control. The organism groups covered in that document are *Abiotrophia* and *Granulicatella* spp. (formerly known as nutritionally deficient or nutritionally variant streptococci), the *Aeromonas hydrophilia* complex, *Bacillus* spp. (not *B. anthracis), Campylobacter jejuni/coli, Corynebacterium* spp. (including *C. diphtheriae), Erysipelothrix rhusiopathiae*, the HACEK group, *Lactobacillus* spp., *Leuconostoc* spp., *Listeria monocytogenes, Moraxella catarrhalis*, *Pasteurella* spp., *Pediococcus* spp., and *Vibrio* spp.

For organisms other than those in the groups mentioned above, studies are not yet adequate to develop reproducible, definitive standards to interpret results. These organisms may require different media, different atmospheres of incubation, or show marked strain-to-strain variation in growth rate. For these microorganisms, consultation with an infectious disease specialist is recommended for guidance in determining the need for susceptibility testing and in the interpretation of results. Published reports in the medical literature and current consensus recommendations for therapy of uncommon microorganisms may obviate the need for testing. If necessary, a dilution method usually will be the most appropriate testing method, and this may require submitting the organism to a reference laboratory. Physicians should be informed of the limitations of results and advised to interpret results with caution.

C. Policies regarding the generation of cumulative antibiograms should be developed in concert with the infectious disease service, infection control personnel, and the pharmacy and therapeutics committee. Under most circumstances, the percentage of susceptible and intermediate results should not be combined into the same statistics. **See CLSI document M39—*Analysis and Presentation of Cumulative Antimicrobial Susceptibility Test Data.***

III. Therapy-Related Comments

Some of the comments in the tables relate to therapy concerns. These are denoted with an ***Rx*** symbol. It may be appropriate to include some of these comments (or modification thereof) on the patient report. An example would be inclusion of a comment on enterococcus susceptibility reports from blood cultures that "enterococcal endocarditis requires combined therapy with high-dose penicillin or high-dose ampicillin or vancomycin or teicoplanin plus gentamicin or streptomycin for bactericidal action."

Antimicrobial dosage regimens often vary widely among practitioners and institutions. In some cases, the MIC interpretive criteria rely on pharmacokinetic-pharmacodynamic data, using specific human dosage regimens. In cases where specific dosage regimens are important for proper application of breakpoints, a therapy-related comment is included.

IV. Verification of Patient Results

Multiple test parameters are monitored by following the quality control recommendations described in this standard. However, acceptable results derived from testing quality control strains do not guarantee accurate results when testing patient isolates. It is important to review all of the results obtained from all drugs tested on a patient's isolate prior to reporting the results. This should include but not be limited to ensuring that: 1) the antimicrobial susceptibility results are consistent with the identification of the isolate; 2) the results from individual agents within a specific drug class follow the established hierarchy of activity rules (eg, third-generation cephems are more active than first- or second-generation cephems against Enterobacteriaceae); and 3) the isolate is susceptible to those agents for which resistance has not been documented (eg, vancomycin and *Streptococcus* spp.) and for which only "susceptible" interpretive criteria exist in M100.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Unusual or inconsistent results should be verified by checking for the following: 1) transcription errors; 2) contamination of the test (recheck purity plates, etc.); 3) for MIC tests, use of a defective panel, plate, or card (eg, broken, underfilled): and 4) previous results on the patient (eg, Did the patient have the same isolate with an unusual antibiogram previously?). If a reason for the unusual or inconsistent result cannot be ascertained, a repeat of the susceptibility test or the identification or both of these is in order. Sometimes, it is helpful to use an alternative test method for the repeat test. A suggested list of results that may require verification is included in Appendix E. Each laboratory must develop its own policies for verification of unusual or inconsistent antimicrobial susceptibility test results. This list should emphasize those results that are highly likely to impact patient care.

V. Development of Resistance and Testing of Repeat Isolates

Isolates that are initially susceptible may become intermediate or resistant after initiation of therapy. Therefore, subsequent isolates of the same species from a similar body site should be tested in order to detect resistance that may have developed. This can occur within as little as three days and has been noted most frequently in *Enterobacter*, *Citrobacter*, and *Serratia* spp. with third-generation cephalosporins; in *P. aeruginosa* with all antimicrobial agents; and in staphylococci with quinolones. For *S. aureus*, vancomycin-susceptible isolates may become vancomycin-intermediate during the course of prolonged therapy.

In certain circumstances, testing of subsequent isolates to detect resistance that may have developed might be warranted earlier than within three to four days. The decision to do so requires knowledge of the specific situation and the severity of the patient's condition (eg, an isolate of *Enterobacter cloacae* from a blood culture on a premature infant). Laboratory guidelines on when to perform susceptibility testing on repeat isolates should be determined after consultation with the medical staff.

VI. Warning

Some of the comments in the tables relate to dangerously misleading results that can occur when certain antimicrobial agents are tested and reported as susceptible against specific organisms. These are denoted with the word **"Warning."**

"Warning": The following antimicrobial agent/organism combinations may appear active *in vitro,* but are not effective clinically and should not be reported as susceptible.		
Location	Organism	Antimicrobial agents that must not be reported as susceptible
Table 2A	ESBL-producing *K. pneumoniae, K. oxytoca, E. coli,* and *P. mirabilis*	penicillins, cephalosporins, and aztreonam
Table 2A	*Salmonella* spp., *Shigella* spp.	1st- and 2nd-generation cephalosporins, cephamycins, and aminoglycosides
Table 2C	oxacillin-resistant *Staphylococcus* spp.	penicillins, β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations, cephems, and carbapenems
Table 2D	*Enterococcus* spp.	aminoglycosides (except high concentrations), cephalosporins, clindamycin, and trimethoprim-sulfamethoxazole
Table 2K **(M7 only)**	*Yersinia pestis*	β-lactam antimicrobial agents

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

VII. Abbreviations

AST – antimicrobial susceptibility tests
BHI – Brain Heart Infusion
BLNAR –β-lactamase negative, ampicillin-resistant
BSL2 – biosafety level 2
BSL3 – biosafety level 3
CAMHB – cation-adjusted Mueller-Hinton broth
CSF – cerebrospinal fluid
DMSO – dimethyl sulfoxide
ESBL – extended-spectrum β-lactamase
FDA – Food and Drug Administration
HLAR – high-level aminoglycoside resistance
HTM – *Haemophilus* Test Medium
KPC – *Klebsiella pneumonia* carbapenemases
LHB – lysed horse blood
MHA – Mueller-Hinton agar
MHB – Mueller-Hinton broth
MIC – minimal inhibitory concentration
MRS – methicillin-resistant staphylococci
MRSA – methicillin-resistant *S. aureus*
MSDS – material safety data sheet
PABA – para-aminobenzoic acid
PBP 2a – penicillin-binding protein 2a
QC – quality control
VRE – vancomycin-resistant enterococci
VRSA – vancomycin-resistant *S. aureus*

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

This page is intentionally left blank.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 1. Suggested Groupings of Antimicrobial Agents With FDA Clinical Indications That Should Be Considered for Routine Testing and Reporting on Nonfastidious Organisms by Clinical Microbiology Laboratories in the United States

	Enterobacteriaceae[g]	***Pseudomonas aeruginosa***	***Staphylococcus* spp.**	***Enterococcus* spp.**[o]
GROUP A PRIMARY TEST AND REPORT	Ampicillin[g]	Ceftazidime	**Azithromycin[b] or clarithromycin[b] or erythromycin[b]**	Ampicillin Penicillin[p]
			Clindamycin[b]	
			Oxacillin (cefoxitin disk)[l,m]	
	Cefazolin[a] Cephalothin[a]	Gentamicin **Tobramycin**	Penicillin[l]	
	Gentamicin **Tobramycin**	Piperacillin	**Trimethoprim-sulfamethoxazole**	
GROUP B[e] PRIMARY TEST REPORT SELECTIVELY	Amikacin	Amikacin	**Daptomycin (MIC methods only)**	**Daptomycin (MIC methods only)**
				Linezolid
	Amoxicillin-clavulanic acid Ampicillin-sulbactam Piperacillin-tazobactam Ticarcillin-clavulanic acid	Aztreonam		Quinupristin-dalfopristin[q]
			Linezolid	Vancomycin
	Cefuroxime		Telithromycin[b]	
	Cefepime	Cefepime	**Doxycycline** **Tetracycline[c]**	
	Cefoxitin	Ciprofloxacin Levofloxacin	Vancomycin	
			Rifampin[d]	
	Cefotaxime[g,h,i] or ceftriaxone[g,h,i]	Imipenem Meropenem		
	Ciprofloxacin[g] Levofloxacin[g]	Piperacillin-tazobactam **Ticarcillin**		
	Ertapenem Imipenem Meropenem			
	Piperacillin			
	Trimethoprim-sulfamethoxazole[g]			
GROUP C[f] SUPPLEMENTAL REPORT SELECTIVELY	Aztreonam Ceftazidime (Both are helpful indicators of extended-spectrum β-lactamases.)[i]		Chloramphenicol[b]	Gentamicin (high-level resistance screen only)
			Ciprofloxacin or levofloxacin or ofloxacin	Streptomycin (high-level resistance screen only)
	Chloramphenicol[b,g]		Moxifloxacin	
			Quinupristin-dalfopristin[n]	
	Tetracycline[c]		Gentamicin	
GROUP U SUPPLEMENTAL FOR URINE ONLY	Lomefloxacin or ofloxacin Norfloxacin	Lomefloxacin or ofloxacin Norfloxacin	Lomefloxacin Norfloxacin	Ciprofloxacin Levofloxacin Norfloxacin
			Nitrofurantoin	Nitrofurantoin
	Nitrofurantoin		Sulfisoxazole	Tetracycline[c]
	Sulfisoxazole			
	Trimethoprim		Trimethoprim	

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 1. (Continued)

GROUP A PRIMARY TEST AND REPORT	***Acinetobacter* spp.**[j,k]	***Burkholderia cepacia***[j,k]	***Stenotrophomonas maltophilia***[j,k]
	Ampicillin-sulbactam	Trimethoprim-sulfamethoxazole	Trimethoprim-sulfamethoxazole
	Ceftazidime		
	Ciprofloxacin **Levofloxacin**		
	Imipenem Meropenem		
	Gentamicin **Tobramycin**		
GROUP B[e] PRIMARY TEST REPORT SELECTIVELY	Amikacin	Ceftazidime	Levofloxacin
		Meropenem	Minocycline
		Minocycline	
	Piperacillin-tazobactam Ticarcillin-clavulanate		
	Cefepime		
	Cefotaxime Ceftriaxone		
	Doxycycline Minocycline Tetracycline		
	Piperacillin		
	Trimethoprim-sulfamethoxazole		
GROUP C[f] SUPPLEMENTAL REPORT SELECTIVELY	**Colistin and Polymyxin B (MIC methods only)**		
GROUP U SUPPLEMENTAL FOR URINE ONLY			

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 1. (Continued)

"Warning": The following antimicrobial agents should not be routinely reported for bacteria isolated from CSF, which are included in this document. These antimicrobial agents are not the drugs of choice and may not be effective for treating CSF infections caused by these organisms (ie, the bacteria included in Tables 2A to 2I):

agents administered by oral route only
1st- and 2nd-generation cephalosporins (except cefuroxime sodium)
clindamycin
macrolides
tetracyclines
fluoroquinolones

NOTE 1: Selection of the most appropriate antimicrobial agents to test and to report is a decision made best by each clinical laboratory in consultation with the infectious disease practitioners and the pharmacy, as well as the pharmacy and therapeutics and infection control committees of the medical staff. The lists for each organism group comprise agents of proven efficacy that show acceptable *in vitro* test performance. Considerations in the assignment of agents to Groups A, B, C, and U include clinical efficacy, prevalence of resistance, minimizing emergence of resistance, cost, FDA clinical indications for usage, and current consensus recommendations for first-choice and alternative drugs, in addition to the specific comments in footnotes "e" and "f." Tests on selected agents may be useful for infection control purposes.

NOTE 2: The listing of drugs together in a single box designates clusters of agents for which interpretive results (susceptible, intermediate, or resistant) and clinical efficacy are similar. Therefore, only one of the agents within each box need be selected for testing. Within each box, an "or" between agents designates those agents for which cross-resistance and cross-susceptibility are nearly complete. This means combined major and very major errors are fewer than 3% and minor errors are fewer than 10%, based on a large population of bacteria tested. In addition, to qualify for an "or," at least 100 strains with resistance to the agents in question must be tested and a result of "resistant" must be obtained with all agents for at least 95% of the strains. "Or" is also used for comparable antimicrobial agents when tested against organisms for which "susceptible-only" interpretive criteria are provided (eg, cefotaxime or ceftriaxone with *Haemophilus influenzae*). Thus, results from one agent connected by an "or" could be used to predict results for the other agent (eg, a non-ESBL-producing isolate of Enterobacteriaceae susceptible to cefotaxime can be considered susceptible to ceftriaxone). The agents reported should be the agents tested unless reporting based on testing another agent provides a more accurate result (eg, susceptibility of staphylococci to oxacillin based on cefoxitin testing), and they usually should match those included in the hospital formulary. Unexpected resistance should be reported (eg, resistance of Enterobacteriaceae to carbapenems).

NOTE 3: Information in boldface type is considered tentative for one year.

Footnotes

General Comments

a. Cephalothin can be used to represent cephalothin, cephapirin, cephradine, cephalexin, cefaclor, and cefadroxil. Cefazolin, cefuroxime, cefpodoxime, cefprozil, and loracarbef (urinary isolates only) may be tested individually, because some isolates may be susceptible to these agents when resistant to cephalothin.

b. Not routinely reported on organisms isolated from the urinary tract.

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 1. (Continued)

c. Organisms that are susceptible to tetracycline are also considered susceptible to doxycycline and minocycline. However, some organisms that are intermediate or resistant to tetracycline may be susceptible to doxycycline or minocycline or both.

d. ***Rx:*** Rifampin should not be used alone for antimicrobial therapy.

e. Group B represents agents that may warrant primary testing, but which should be reported only selectively, such as when the organism is resistant to agents of the same class in Group A. Other indications for reporting the result might include selected specimen sources (eg, third-generation cephalosporin for isolates of enteric bacteria from cerebrospinal fluid or trimethoprim-sulfamethoxazole for urinary tract isolates); stated allergy or intolerance, or failure to respond to an agent in Group A; polymicrobial infections; infections involving multiple sites with different microorganisms; or reports to infection control as an epidemiologic aid.

f. Group C represents alternative or supplemental antimicrobial agents that may require testing in those institutions that harbor endemic or epidemic strains resistant to one or more of the primary drugs (especially in the same class, eg, β-lactams), or for treatment of unusual organisms (eg, chloramphenicol for extraintestinal isolates of *Salmonella* spp.), or reporting to infection control as an epidemiologic aid.

Enterobacteriaceae

g. When fecal isolates of *Salmonella* and *Shigella* spp. are tested, only ampicillin, a quinolone, and trimethoprim-sulfamethoxazole should be reported routinely. In addition, chloramphenicol and a third-generation cephalosporin should be tested and reported for extraintestinal isolates of *Salmonella* spp.

h. Cefotaxime and ceftriaxone should be tested and reported on isolates from CSF in place of cephalothin and cefazolin.

i. Strains of *Klebsiella* spp., *E. coli,* and *P. mirabilis* that produce ESBLs may be clinically resistant to therapy with penicillins, cephalosporins, or aztreonam, despite apparent *in vitro* susceptibility to some of these agents. Some of these strains will show zones of inhibition below the normal susceptible population, but above the standard breakpoints for certain extended-spectrum cephalosporins or aztreonam; such strains may be screened for potential ESBL production by using the screening breakpoints listed **in Appendix A**, Initial Screen Test. Other strains may test intermediate or resistant by standard breakpoints to one or more of these agents. In all strains with ESBLs, the zone diameters for one or more of the extended-spectrum cephalosporins should increase in the presence of clavulanic acid, as **in Appendix A**, Phenotypic Confirmatory Test. For all confirmed ESBL-producing strains, the test interpretation should be reported as resistant for all penicillins, cephalosporins, and aztreonam. (See Glossary I for specific agents included in the antimicrobial class, penicillins, and antimicrobial subclass, cephalosporins.)

Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter spp., *Burkholderia cepacia*, and *Stenotrophomonas maltophilia*

j. Non-Enterobacteriaceae except for *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *B. cepacia*, and *S. maltophilia* should be tested by the dilution method (see M7).

k. Other agents may be approved for therapy, but their performance has not been sufficiently studied to establish disk diffusion breakpoints (see M7).

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 1. (Continued)

Staphylococcus spp.

l. Penicillin-susceptible staphylococci are also susceptible to other penicillins, cephems, and carbapenems approved for use by the FDA for staphylococcal infections. Penicillin-resistant, oxacillin-susceptible strains are resistant to penicillinase-labile penicillins, but susceptible to other penicillinase-stable penicillins, β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations, relevant cephems, and carbapenems. (See Glossary I for specific agents included in the antimicrobial class or antimicrobial subclass indicated.) Oxacillin-resistant staphylococci are resistant to all currently available β-lactam antibiotics. Thus, susceptibility or resistance to a wide array of β-lactam antibiotics may be deduced from testing only penicillin and oxacillin. Routine testing of other penicillins, β-lactamase inhibitor combinations, cephems, and carbapenems is not advised.

m. The cefoxitin disk test is the preferred method for testing *S. aureus, S. lugdunensis*, and coagulase-negative staphylococci for resistance to the penicillinase-stable penicillins. Cefoxitin is used as a surrogate for detecting oxacillin resistance; report oxacillin as susceptible or resistant based on the cefoxitin result.

n. For reporting against methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*.

Enterococcus spp.

o. **Warning:** For *Enterococcus* spp., cephalosporins, aminoglycosides (except for high-level resistance screening), clindamycin, and trimethoprim-sulfamethoxazole may appear active *in vitro,* but are not effective clinically, and isolates should not be reported as susceptible.

p. Enterococci susceptible to penicillin are predictably susceptible to ampicillin, amoxicillin, ampicillin-sulbactam, amoxicillin-clavulanate, piperacillin, and piperacillin-tazobactam for non-β-lactamase-producing enterococci. However, enterococci susceptible to ampicillin cannot be assumed to be susceptible to penicillin. If penicillin results are needed, testing of penicillin is required. ***Rx:*** Combination therapy of ampicillin, penicillin, or vancomycin (for susceptible strains), plus an aminoglycoside, is usually indicated for serious enterococcal infections, such as endocarditis, unless high-level resistance to both gentamicin and streptomycin is documented; such combinations are predicted to result in synergistic killing of the enterococcus.

q. For reporting against vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*.

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

This page is intentionally left blank.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 1A. Suggested Groupings of Antimicrobial Agents With FDA Clinical Indications That Should Be Considered for Routine Testing and Reporting on Fastidious Organisms by Clinical Microbiology Laboratories in the United States

	***Haemophilus* spp.**[e]	***Neisseria gonorrhoeae***	***Streptococcus pneumoniae***[j]	***Streptococcus* spp. Beta-hemolytic group**[r]	***Streptococcus* spp. Viridans group**[r]
GROUP A PRIMARY TEST AND REPORT	Ampicillin[e,g]		Erythromycin[a,n]	**Clindamycin[n,q]**	**Ampicillin and penicillin (MIC methods only)[m]**
				Erythromycin[a,n,q]	
	Trimethoprim-sulfamethoxazole		Penicillin (oxacillin disk)[k]	Penicillin[o] or ampicillin[o]	
			Trimethoprim-sulfamethoxazole		
GROUP B[b] PRIMARY TEST REPORT SELECTIVELY	Cefotaxime[e] or ceftazidime[e] or ceftriaxone[e]		Clindamycin[n]	**Cefepime or cefotaxime or ceftriaxone**	**Cefepime Cefotaxime Ceftriaxone**
			Gemifloxacin Levofloxacin Moxifloxacin Ofloxacin		
	Cefuroxime (parenteral)		Telithromycin		
			Tetracycline[d]		
	Chloramphenicol[e,n]				
	Meropenem[e,h]		Vancomycin[k]	Vancomycin	Vancomycin
GROUP C[c] SUPPLEMENTAL REPORT SELECTIVELY	Azithromycin[f] Clarithromycin[f]	Cefixime or cefpodoxime	Chloramphenicol[o]	**Chloramphenicol[n]**	**Chloramphenicol[n]**
	Aztreonam	Cefotaxime or ceftriaxone	Linezolid	**Daptomycin (MIC methods only)**	**Clindamycin[n]**
	Cefaclor[f] Cefprozil[f]	Cefoxitin Cefuroxime	Rifampin[l]	Levofloxacin Ofloxacin	**Erythromycin[n]**
	Cefdinir[f] or cefixime[f] or cefpodoxime[f]			Linezolid	Linezolid
	Cefuroxime (oral)	Ciprofloxacin or ofloxacin		Quinupristin-dalfopristin[p]	
	Ciprofloxacin or levofloxacin or lomefloxacin or moxifloxacin or ofloxacin Gemifloxacin	Penicillin[i]			
	Ertapenem or imipenem	Spectinomycin			
		Tetracycline			
	Rifampin				
	Telithromycin[f]				
	Tetracycline[d]				

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 1A. (Continued)

"Warning": The following antimicrobial agents should not be routinely reported for bacteria isolated from CSF, which are included in this document. These antimicrobial agents are not the drugs of choice and may not be effective for treating CSF infections caused by these organisms (ie, the bacteria included in Tables 2A to 2I):

agents administered by oral route only
1st- and 2nd-generation cephalosporins (except cefuroxime sodium)
clindamycin
macrolides
tetracyclines
fluoroquinolones

NOTE 1: Selection of the most appropriate antimicrobial agents to test and to report is a decision best made by each clinical laboratory in consultation with the infectious disease practitioners and the pharmacy, as well as the pharmacy and therapeutics and infection control committees of the medical staff. The lists for each organism group comprise agents of proven efficacy that show acceptable *in vitro* test performance. Considerations in the assignment of agents to Groups A, B, and C include clinical efficacy, prevalence of resistance, minimizing emergence of resistance, cost, FDA clinical indications for usage, and current consensus recommendations for first-choice and alternative drugs, in addition to the specific comments in footnotes "b" and "c." Tests on selected agents may be useful for infection control purposes.

NOTE 2: The listing of drugs together in a single box designates clusters of agents for which interpretive results (susceptible, intermediate, or resistant) and clinical efficacy are similar. Therefore, only one of the agents within each box need be selected for testing. Within each box, an "or" between agents designates those agents for which cross-resistance and cross-susceptibility are nearly complete. This means combined major and very major errors are fewer than 3% and minor errors are fewer than 10%, based on a large population of bacteria tested. In addition, to qualify for an "or," at least 100 strains with resistance to the agents in question must be tested and a result of "resistant" must be obtained with all agents for at least 95% of the strains. "Or" is also used for comparable antimicrobial agents when tested against organisms for which "susceptible-only" interpretive criteria are provided (eg, cefotaxime or ceftriaxone with *Haemophilus influenzae*). Thus, results from one agent connected by an "or" could be used to predict results for the other agent (eg, a non-ESBL-producing isolate of Enterobacteriaceae susceptible to cefotaxime can be considered susceptible to ceftriaxone). The agents reported should be the agents tested unless reporting based on testing another agent provides a more accurate result (eg, susceptibility of staphylococci to oxacillin based on cefoxitin testing), and they usually should match those included in the hospital formulary. Unexpected resistance should be reported (eg, resistance of Enterobacteriaceae to carbapenems).

NOTE 3: Information in boldface type is considered tentative for one year.

Footnotes

General Comments

a. Susceptibility and resistance to azithromycin, clarithromycin, and dirithromycin can be predicted by testing erythromycin.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 1A. (Continued)

b. Group B represents agents that may warrant primary testing, but which should be reported only selectively, such as when the organism is resistant to agents of the same class in Group A. Other indications for reporting the result might include selected specimen sources (eg, third-generation cephalosporin for isolates of *Haemophilus influenzae* from CSF); stated allergy or intolerance, or failure to respond to an agent in Group A; polymicrobial infections; infections involving multiple sites with different microorganisms; or reports to infection control as an epidemiologic aid.

c. Group C represents alternative or supplemental antimicrobial agents that may require testing in those institutions that harbor endemic or epidemic strains resistant to one or more of the primary drugs (especially in the same class, eg, β-lactams), or for treatment of unusual organisms, or reporting to infection control as an epidemiologic aid.

d. Organisms that are susceptible to tetracycline are also considered susceptible to doxycycline and minocycline.

Haemophilus spp.

e. Only results of testing with ampicillin, one of the third-generation cephalosporins, chloramphenicol, and meropenem should be reported routinely with CSF isolates of *H. influenzae*.

f. Amoxicillin-clavulanic acid, azithromycin, clarithromycin, cefaclor, cefprozil, loracarbef, cefdinir, cefixime, cefpodoxime, cefuroxime, and telithromycin are oral agents that may be used as empiric therapy for respiratory tract infections due to *Haemophilus* spp. The results of susceptibility tests with these antimicrobial agents are often not useful for management of individual patients. However, susceptibility testing of *Haemophilus* spp. with these compounds may be appropriate for surveillance or epidemiologic studies.

g. The results of ampicillin susceptibility tests should be used to predict the activity of amoxicillin. The majority of isolates of *H. influenzae* that are resistant to ampicillin and amoxicillin produce a TEM-type β-lactamase. In most cases, a direct β-lactamase test can provide a rapid means of detecting ampicillin and amoxicillin resistance.

h. Clinical indications and relevant pathogens include bacterial meningitis and concurrent bacteremia in association with meningitis caused by *H. influenzae* (β-lactamase and non-β-lactamase-producing strains).

Neisseria gonorrhoeae

i. A β-lactamase test will detect one form of penicillin resistance in *N. gonorrhoeae* and also may be used to provide epidemiologic information. Strains with chromosomally mediated resistance can be detected only by additional susceptibility testing, such as the disk diffusion method or the agar dilution MIC method.

Streptococcus pneumoniae

j. Amoxicillin, ampicillin, cefepime, cefotaxime, ceftriaxone, cefuroxime, imipenem, and meropenem may be used to treat pneumococcal infections; however, reliable disk diffusion susceptibility tests with these agents do not yet exist. Their *in vitro* activity is best determined using an MIC method (see M7).

k. Penicillin and cefotaxime or ceftriaxone or meropenem should be tested by a reliable MIC method (such as that described in CLSI document M7) and reported routinely with CSF isolates of *S. pneumoniae*. Such isolates should also be tested against vancomycin using the MIC or disk method. With isolates from other sites, the oxacillin disk screening test may be used. If the oxacillin zone size is ≤ 19 mm, penicillin and cefotaxime or ceftriaxone MICs should be determined.

l. ***Rx:*** Rifampin should not be used alone for antimicrobial therapy.

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 1A. (Continued)

Streptococcus spp.

m. Viridans streptococci isolated from blood and normally sterile body sites (eg, cerebrospinal fluid, blood, bone) should be tested for penicillin or ampicillin susceptibility using an MIC method.

n. Not routinely reported on organisms isolated from the urinary tract.

o. Susceptibility testing of penicillins and other β-lactams approved by FDA for treatment of *Streptococcus pyogenes* or *S. agalactiae* is not necessary for clinical purposes and need not be done routinely, since as with vancomycin, resistant strains have not been recognized. Interpretive criteria are provided for pharmaceutical development, epidemiology, or monitoring for emerging resistance. Any strain found to be nonsusceptible should be referred to a reference laboratory for confirmation.

p. Report against *S. pyogenes*.

q. ***Rx:*** Recommendations for intrapartum prophylaxis for Group B streptococci are penicillin or ampicillin. While cefazolin is recommended for penicillin-allergic women at low risk for anaphylaxis, those at high risk for anaphylaxis may receive clindamycin or erythromycin. Group B streptococci are susceptible to ampicillin, penicillin, and cefazolin, but may be resistant to clindamycin and/or erythromycin. When a Group B streptococcus is isolated from a pregnant woman with severe penicillin allergy (high risk for anaphylaxis), clindamycin and erythromycin should be tested and reported.

r. For this table, the beta-hemolytic group includes the large-colony-forming pyogenic strains of streptococci with Group A (*S. pyogenes*), C, or G antigens and strains with Group B (*S. agalactiae*) antigen. Small-colony-forming beta-hemolytic strains with Group A, C, F, or G antigens (*S. anginosus*, previously termed "*S. milleri*") are considered part of the viridans group, and interpretive criteria for the viridans group should be used.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 2A. Zone Diameter Interpretive Standards and Equivalent Minimal Inhibitory Concentration (MIC) Breakpoints for Enterobacteriaceae

Testing Conditions

Medium: Mueller-Hinton agar
Inoculum: Growth method or direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation: 35 ± 2 °C; ambient air; 16 to 18 hours

Minimal QC Recommendations (See Table 3 for acceptable QC ranges.)

Escherichia coli ATCC® 25922
Escherichia coli ATCC® 35218 (for β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations)

General Comments

(1) Measure the diameter of the zones of complete inhibition (as judged by the unaided eye), including the diameter of the disk. Hold the petri plate a few inches above a black, nonreflecting background illuminated with reflected light. The zone margin should be considered the area showing no obvious, visible growth that can be detected with the unaided eye. Ignore faint growth of tiny colonies that can be detected only with a magnifying lens at the edge of the zone of inhibited growth. Strains of *Proteus* spp. may swarm into areas of inhibited growth around certain antimicrobial agents. With *Proteus* spp., ignore the thin veil of swarming growth in an otherwise obvious zone of growth inhibition. With trimethoprim and the sulfonamides, antagonists in the medium may allow some slight growth; therefore, disregard slight growth (20% or less of the lawn of growth) and measure the more obvious margin to determine the zone diameter.

(2) When fecal isolates of *Salmonella* and *Shigella* spp. are tested, only ampicillin, a quinolone **and/or a fluoroquinolone,** and trimethoprim-sulfamethoxazole should be reported routinely. In addition, chloramphenicol and a third-generation cephalosporin should be tested and reported for extraintestinal isolates of *Salmonella* spp.

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole mm			Equivalent MIC Breakpoints (μg/mL)		Comments
			R	I	S	R	S	
PENICILLINS								
A	Ampicillin	10 μg	≤ 13	14-16	≥ 17	≥ 32	≤ 8	(3) Class representative for ampicillin and amoxicillin. **See comment (2).**
B	Piperacillin	100 μg	≤ 17	18-20	≥ 21	≥ 128	≤ 16	
O	Carbenicillin	100 μg	≤ 19	20-22	≥ 23	≥ 64	≤ 16	
O	Mecillinam	10 μg	≤ 11	12-14	≥ 15	≥ 32	≤ 8	(4) For use against *E. coli* urinary tract isolates only.
O	Mezlocillin	75 μg	≤ 17	18-20	≥ 21	≥ 128	≤ 16	
O	Ticarcillin	75 μg	≤ 14	15-19	≥ 20	≥ 128	≤ 16	
β-LACTAM/β-LACTAMASE INHIBITOR COMBINATIONS								
B	Amoxicillin-clavulanic acid	20/10 μg	≤ 13	14-17	≥ 18	≥ 32/16	≤ 8/4	
B	Ampicillin-sulbactam	10/10 μg	≤ 11	12-14	≥ 15	≥ 32/16	≤ 8/4	
B	Piperacillin-tazobactam	100/10 μg	≤ 17	18-20	≥ 21	≥ 128/4	≤ 16/4	
B	Ticarcillin-clavulanic acid	75/10 μg	≤ 14	15-19	≥ 20	≥ 128/2	≤ 16/2	

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2A. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole mm			Equivalent MIC Breakpoints (μg/mL)		Comments
			R	I	S	R	S	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)								(5) **WARNING:** For *Salmonella* spp. and *Shigella* spp., first- and second-generation cephalosporins and cephamycins may appear active *in vitro,* but are not effective clinically and should not be reported as susceptible. (6) Strains of *Klebsiella* spp. and *E. coli* that produce extended-spectrum beta-lactamase (ESBLs) may be clinically resistant to therapy with penicillins, cephalosporins, or aztreonam, despite apparent *in vitro* susceptibility to some of these agents. Some of these strains will show zones of inhibition below the normal susceptible population, but above the standard breakpoints for certain extended-spectrum cephalosporins or aztreonam. Such strains should be screened for potential ESBL production by using the ESBL screening breakpoints listed **in Appendix A** before reporting results for penicillins, extended-spectrum cephalosporins, or aztreonam. Other strains may test intermediate or resistant by standard breakpoints to one or more of these agents. In all strains with ESBLs, the zone diameters for one or more of the extended-spectrum cephalosporins or aztreonam should increase in the presence of clavulanic acid, as determined in phenotypic confirmatory testing. For all confirmed ESBL-producing strains, the test interpretation should be reported as resistant for all penicillins, cephalosporins, and aztreonam. (See the table located **in Appendix A** for ESBL screening and confirmatory tests. Refer to the glossary for definitions of penicillins and cephalosporins.) The decision to perform ESBL screening tests on all urine isolates should be made on an institutional basis, considering prevalence, therapy, and infection control issues. Refer to Appendix A for screening and confirmatory tests for ESBLs. (7) Screening of *Proteus mirabilis* for ESBL production is recommended only when it is deemed clinically relevant (eg, a bacteremic isolate). Refer to Appendix A for screening and confirmatory tests for ESBLs. (8) *Enterobacter, Citrobacter,* and *Serratia* may develop resistance during prolonged therapy with third-generation cephalosporins. Therefore, isolates that are initially susceptible may become resistant within three to four days after initiation of therapy. Testing of repeat isolates may be warranted.
A	Cefazolin	30 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	(9) Cephalothin can be used to predict activity of cephalothin, cephapirin, cephradine, cephalexin, cefaclor, and cefadroxil. Cefazolin, cefuroxime, cefpodoxime, cefprozil, and loracarbef (urinary isolates only) may be tested individually, because some isolates may be susceptible to these agents when resistant to cephalothin.
A	Cephalothin	30 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2A. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole mm			Equivalent MIC Breakpoints (μg/mL)		Comments
			R	I	S	R	S	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Continued)								
B	Cefepime	30 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
B	Cefotaxime or	30 μg	≤ 14	15-22	≥ 23	≥ 64	≤ 8	(10) Cefotaxime and ceftriaxone should be tested and reported on isolates from CSF in place of cephalothin and cefazolin. See comment (6).
B	ceftriaxone	30 μg	≤ 13	14-20	≥ 21	≥ 64	≤ 8	
B	Cefoxitin	30 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
B	Cefuroxime (parenteral)	30 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
C	Ceftazidime	30 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	See comment (6).
O	Cefamandole	30 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
O	Cefmetazole	30 μg	≤ 12	13-15	≥ 16	≥ 64	≤ 16	
O	Cefonicid	30 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
O	Cefoperazone	75 μg	≤ 15	16-20	≥ 21	≥ 64	≤ 16	
O	Cefotetan	30 μg	≤ 12	13-15	≥ 16	≥ 64	≤ 16	
O	Ceftizoxime	30 μg	≤ 14	15-19	≥ 20	≥ 32	≤ 8	
O	Moxalactam	30 μg	≤ 14	15-22	≥ 23	≥ 64	≤ 8	
CEPHEMS (ORAL)								
B	Cefuroxime (oral)	30 μg	≤ 14	15-22	≥ 23	≥ 32	≤ 4	
O	Loracarbef	30 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	(11) Because certain strains of *Citrobacter, Providencia*, and *Enterobacter* spp. have been reported to give false-susceptible results with cefdinir and loracarbef disks, strains of these genera should not be tested and reported with these disks.
O	Cefaclor	30 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
O	Cefdinir	5 μg	≤ 16	17-19	≥ 20	≥ 4	≤ 1	See comment (11).
O	Cefixime	5 μg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 4	≤ 1	(12) Not applicable for testing *Morganella* spp.
O	Cefpodoxime	10 μg	≤ 17	18-20	≥ 21	≥ 8	≤ 2	See comments (6) and (12).
O	Cefprozil	30 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	(13) Because certain strains of *Providencia* spp. have been reported to give false-susceptible results with cefprozil disks, strains of this genus should not be tested and reported with this disk.
Inv.	Cefetamet	10 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 16	≤ 4	See comment (12).
Inv.	Ceftibuten	30 μg	≤ 17	18-20	≥ 21	≥ 32	≤ 8	(14) Indicated for urine isolates only.
CARBAPENEMS								
B	Ertapenem	10 μg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 8	≤ 2	**(15) Carbapenemases (including the *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases [KPC] and other carbapenem-hydrolyzing beta-lactamases) are being increasingly detected in clinical isolates of *Enterobacteriaceae*, particularly *K. pneumoniae,* in some geographic regions. Clinical isolates of *Enterobacteriaceae* harboring these carbapenemases may be resistant to therapy with carbapenem agents, despite apparent *in vitro* susceptibility using current CLSI breakpoints.** ***Enterobacteriaceae* that are resistant to extended-spectrum cephalosporins and have carbapenem (meropenem, imipenem, ertapenem) MICs of 2 or 4 μg/mL may produce KPC-type or other carbapenemases. In regions where carbapenemases are rare in *Enterobacteriaceae*, such isolates should be sent to a reference laboratory for further characterization.**
B	Imipenem	10 μg	≤ 13	14-15	≥ 16	≥ 16	≤ 4	
B	Meropenem	10 μg	≤ 13	14-15	≥ 16	≥ 16	≤ 4	

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2A. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole mm			Equivalent MIC Breakpoints (µg/mL)		Comments
			R	I	S	R	S	
MONOBACTAMS								
C	Aztreonam	30 µg	≤ 15	16-21	≥ 22	≥ 32	≤ 8	See comment (6).
AMINOGLYCOSIDES								(16**) WARNING:** For *Salmonella* spp. and *Shigella* spp., aminoglycosides may appear active *in vitro,* but are not effective clinically and should not be reported as susceptible.
A	Gentamicin	10 µg	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 8	≤ 4	
A	Tobramycin	10 µg	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 8	≤ 4	
B	Amikacin	30 µg	≤ 14	15-16	≥ 17	≥ 32	≤ 16	
O	Kanamycin	30 µg	≤ 13	14-17	≥ 18	≥ 25	≤ 6	
O	Netilmicin	30 µg	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 32	≤ 12	
O	Streptomycin	10 µg	≤ 11	12-14	≥ 15	-	-	
TETRACYCLINES								(17) Organisms that are susceptible to tetracycline are also considered susceptible to doxycycline and minocycline. However, some organisms that are intermediate or resistant to tetracycline may be susceptible to doxycycline or minocycline or both.
C	Tetracycline	30 µg	≤ 11	12-14	≥ 15	≥ 16	≤ 4	
O	Doxycycline	30 µg	≤ 10	11-13	≥ 14	≥ 16	≤ 4	
O	Minocycline	30 µg	≤ 12	13-15	≥ 16	≥ 16	≤ 4	
FLUOROQUINOLONES								(18) Fluoroquinolone-susceptible strains of *Salmonella* that test resistant to nalidixic acid may be associated with clinical failure or delayed response in fluoroquinolone-treated patients with extraintestinal salmonellosis. Extraintestinal isolates of *Salmonella* should also be tested for resistance to nalidixic acid. For isolates that test susceptible to fluoroquinolones and resistant to nalidixic acid, the physician should be informed that the isolate may not be eradicated by fluoroquinolone treatment. A consultation with an infectious disease practitioner is recommended. **See comment (2).**
B	Ciprofloxacin	5 µg	≤ 15	16-20	≥ 21	≥ 4	≤ 1	
B	Levofloxacin	5 µg	≤ 13	14-16	≥ 17	≥ 8	≤ 2	
U	Lomefloxacin or	10 µg	≤ 18	19-21	≥ 22	≥ 8	≤ 2	
U	ofloxacin	5 µg	≤ 12	13-15	≥ 16	≥ 8	≤ 2	
U	Norfloxacin	10 µg	≤ 12	13-16	≥ 17	≥ 16	≤ 4	
O	Enoxacin	10 µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 8	≤ 2	
O	Gatifloxacin	5 µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 8	≤ 2	
O	Gemifloxacin	5 µg	≤ 15	16-19	≥ 20	≥ 1	≤ 0.25	(19) FDA-approved for *Klebsiella pneumoniae*.
O	Grepafloxacin	5 µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 4	≤ 1	
Inv.	Fleroxacin	5 µg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 8	≤ 2	

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2A. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole mm			Equivalent MIC Breakpoints (μg/mL)		Comments
			R	I	S	R	S	
QUINOLONES								
O	Cinoxacin	100 μg	≤ 14	15-18	≥ 19	≥ 64	≤ 16	
O	Nalidixic acid	30 μg	≤ 13	14-18	≥ 19	≥ 32	≤ 8	See comment (14). (20) In addition to testing urine isolates, nalidixic acid may be used to test for reduced fluoroquinolone susceptibility in isolates from patients with extraintestinal *Salmonella* infections. See comment (18).
FOLATE PATHWAY INHIBITORS								
B	Trimethoprim-sulfamethoxazole	1.25/23.75 μg	≤ 10	11-15	≥ 16	≥ 8/152	≤ 2/38	**See comment (2).**
U	Sulfonamides	250 or 300 μg	≤ 12	13-16	≥ 17	≥ 350	≤ 100	(21) The sulfisoxazole disk can be used to represent any of the currently available sulfonamide preparations.
U	Trimethoprim	5 μg	≤ 10	11-15	≥ 16	≥ 16	≤ 4	
PHENICOLS								
C	Chloramphenicol	30 μg	≤ 12	13-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	(22) Not routinely reported on isolates from the urinary tract.
NITROFURANTOINS								
U	Nitrofurantoin	300 μg	≤ 14	15-16	≥ 17	≥ 128	≤ 32	
FOSFOMYCINS								
O	Fosfomycin	200 μg	≤ 12	13-15	≥ 16	≥ 256	≤ 64	(23) Indicated for use against *E. coli* **urinary tract isolates** only. The 200-μg fosfomycin disk contains 50 μg of glucose-6-phosphate.

© *Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

This page is intentionally left blank.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 2B-1. Zone Diameter Interpretive Standards and Equivalent Minimal Inhibitory Concentration (MIC) Breakpoints for *Pseudomonas aeruginosa*

Testing Conditions

Medium: Mueller-Hinton agar
Inoculum: Growth method or direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation: 35 ± 2 °C; ambient air; 16 to 18 hours

Minimal QC Recommendations (See Table 3 for acceptable QC ranges.)

Escherichia coli ATCC® 25922
Pseudomonas aeruginosa ATCC® 27853
Escherichia coli ATCC® 35218 (for β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations)

General Comments

(1) **Measure the diameter of the zones of complete inhibition (as judged by the unaided eye), including the diameter of the disk. Hold the petri plate a few inches above a black, nonreflecting background illuminated with reflected light. The zone margin should be considered the area showing no obvious, visible growth that can be detected with the unaided eye. Ignore faint growth of tiny colonies that can be detected only with a magnifying lens at the edge of the zone of inhibited growth.**

(2) The susceptibility of *P. aeruginosa* isolated from patients with cystic fibrosis can be reliably determined by the disk method, but may require extended incubation up to 24 hours before reporting as susceptible.

(3) *P. aeruginosa* may develop resistance during prolonged therapy with all antibiotics. Therefore, isolates that are initially susceptible may become resistant within three to four days after initiation of therapy. Testing of repeat isolates may be warranted.

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole mm			Equivalent MIC Breakpoints (µg/mL)		Comments
			R	I	S	R	S	
PENICILLINS								(4) ***Rx:*** The susceptible category for these drugs implies the need for high-dose therapy for serious infections caused by *P. aeruginosa*. For these infections, monotherapy has been associated with clinical failure. The addition of a second antimicrobial agent (eg, fluoroquinolone, aminoglycoside) with *in vitro* activity against *P. aeruginosa* should be considered.
A	Piperacillin	100 µg	≤ 17	-	≥ 18	≥ 128	≤ 64	
B	Ticarcillin	75 µg	≤ 14	-	≥ 15	≥ 128	≤ 64	
O	Azlocillin	75 µg	≤ 17	-	≥ 18	≥ 128	≤ 64	
O	Carbenicillin	100 µg	≤ 13	14-16	≥ 17	≥ 512	≤ 128	
O	Mezlocillin	75 µg	≤ 15	-	≥ 16	≥ 128	≤ 64	

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2B-1. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole mm			Equivalent MIC Breakpoints (μg/mL)		Comments
			R	I	S	R	S	
β-LACTAM/β-LACTAMASE INHIBITOR COMBINATIONS								**See comment (4).**
B	Piperacillin-tazobactam	100/10 μg	≤ 17	-	≥ 18	≥ 128/4	≤ 64/4	
O	Ticarcillin-clavulanic acid	75/10 μg	≤ 14	-	≥ 15	≥ 128/2	≤ 64/2	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)								
A	Ceftazidime	30 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
B	Cefepime	30 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
O	Cefoperazone	75 μg	≤ 15	16-20	≥ 21	≥ 64	≤ 16	
O	Cefotaxime	30 μg	≤ 14	15-22	≥ 23	≥ 64	≤ 8	
O	Ceftriaxone	30 μg	≤ 13	14-20	≥ 21	≥ 64	≤ 8	
O	Ceftizoxime	30 μg	≤ 14	15-19	≥ 20	≥ 32	≤ 8	
O	Moxalactam	30 μg	≤ 14	15-22	≥ 23	≥ 64	≤ 8	
CARBAPENEMS								
B	Imipenem	10 μg	≤ 13	14-15	≥ 16	≥ 16	≤ 4	
B	Meropenem	10 μg	≤ 13	14-15	≥ 16	≥ 16	≤ 4	
LIPOPEPTIDES								
O	Colistin	10 μg	≤ 10	-	≥ 11	≥ 8	≤ 2	
O	Polymyxin B	300 units	≤ 11	-	≥ 12	≥ 8	≤ 2	
MONOBACTAMS								
B	Aztreonam	30 μg	≤ 15	16-21	≥ 22	≥ 32	≤ 8	
AMINOGLYCOSIDES								
A	Gentamicin	10 μg	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 8	≤ 4	
A	Tobramycin	10 μg	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 8	≤ 4	
B	Amikacin	30 μg	≤ 14	15-16	≥ 17	≥ 32	≤ 16	
O	Netilmicin	30 μg	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 32	≤ 12	
FLUOROQUINOLONES								
B	Ciprofloxacin	5 μg	≤ 15	16-20	≥ 21	≥ 4	≤ 1	
B	Levofloxacin	5 μg	≤ 13	14-16	≥ 17	≥ 8	≤ 2	
U	Lomefloxacin or	10 μg	≤ 18	19-21	≥ 22	≥ 8	≤ 2	
U	ofloxacin	5 μg	≤ 12	13-15	≥ 16	≥ 8	≤ 2	
U	Norfloxacin	10 μg	≤ 12	13-16	≥ 17	≥ 16	≤ 4	
O	Gatifloxacin	5 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 8	≤ 2	(5) This breakpoint applies to isolates from the urinary tract only.

Table 2B-1
Pseudomonas aeruginosa
M2-Disk Diffusion

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2B-2. Zone Diameter Interpretive Standards and Equivalent Minimal Inhibitory Concentration (MIC) Breakpoints for *Acinetobacter* spp.

Testing Conditions

Medium: Mueller-Hinton agar
Inoculum: Growth method or direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation: 35 ± 2 °C; ambient air; 20 to 24 hours

Minimal QC Recommendations (See Table 3 for acceptable QC ranges.)

Escherichia coli ATCC® 25922
Pseudomonas aeruginosa ATCC® 27853
Escherichia coli ATCC® 35218 (for β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations)

General Comments

(1) Measure the diameter of the zones of complete inhibition (as judged by the unaided eye), including the diameter of the disk. Hold the petri plate a few inches above a black, nonreflecting background illuminated with reflected light. The zone margin should be considered the area showing no obvious, visible growth that can be detected with the unaided eye. Ignore faint growth of tiny colonies that can be detected only with a magnifying lens at the edge of the zone of inhibited growth. With trimethoprim and the sulfonamides, antagonists in the medium may allow some slight growth; therefore, disregard slight growth (20% or less of the lawn of growth) and measure the more obvious margin to determine the zone diameter.

(2) Other agents may be approved for therapy, but their performance has not been sufficiently studied to establish disk diffusion breakpoints.

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole mm			Equivalent MIC Breakpoints (μg/mL)		Comments
			R	I	S	R	S	
PENICILLINS								
B	Piperacillin	100 μg	≤ 17	18-20	≥ 21	≥ 128	≤ 16	
O	Mezlocillin	75 μg	≤ 17	18-20	≥ 21	≥ 128	≤ 16	
O	Ticarcillin	75 μg	≤ 14	15-19	≥ 20	≥ 128	≤ 16	
β-LACTAM/β-LACTAMASE INHIBITOR COMBINATIONS								
A	Ampicillin-sulbactam	10/10 μg	≤ 11	12-14	≥ 15	≥ 32/16	≤ 8/4	
B	Piperacillin-tazobactam	100/10 μg	≤ 17	18-20	≥ 21	≥ 128/4	≤ 16/4	
B	Ticarcillin-clavulanic acid	75/10 μg	≤ 14	15-19	≥ 20	≥ 128/2	≤ 16/2	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)								
A	Ceftazidime	30 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
B	Cefepime	30 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
B	Cefotaxime	30 μg	≤ 14	15-22	≥ 23	≥ 64	≤ 8	
B	Ceftriaxone	30 μg	≤ 13	14-20	≥ 21	≥ 64	≤ 8	
CARBAPENEMS								
A	Imipenem	10 μg	≤ 13	14-15	≥ 16	≥ 16	≤ 4	
A	Meropenem	10 μg	≤ 13	14-15	≥ 16	≥ 16	≤ 4	

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2B-2. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole mm			Equivalent MIC Breakpoints (μg/mL)		Comments
			R	I	S	R	S	
AMINOGLYCOSIDES								
A	Gentamicin	10 μg	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 8	≤ 4	
A	Tobramycin	10 μg	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 8	≤ 4	
B	Amikacin	30 μg	≤ 14	15-16	≥ 17	≥ 32	≤ 16	
TETRACYCLINES								(3) Organisms that are susceptible to tetracycline are also considered susceptible to doxycycline and minocycline. However, some organisms that are intermediate or resistant to tetracycline may be susceptible to doxycycline or minocycline or both.
B	Tetracycline	30 μg	≤ 11	12-14	≥ 15	≥ 16	≤ 4	
B	Doxycycline	30 μg	≤ 9	10-12	≥ 13	≥ 16	≤ 4	
B	Minocycline	30 μg	≤ 12	13-15	≥ 16	≥ 16	≤ 4	
FLUOROQUINOLONES								
A	Ciprofloxacin	5 μg	≤ 15	16-20	≥ 21	≥ 4	≤ 1	
A	Levofloxacin	5 μg	≤ 13	14-16	≥ 17	≥ 8	≤ 2	
O	Gatifloxacin	5 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 8	≤ 2	
FOLATE PATHWAY INHIBITORS								
B	Trimethoprim-sulfamethoxazole	1.25/23.75 μg	≤ 10	11-15	≥ 16	≥ 8/152	≤ 2/38	

Table 2B-2
Acinetobacter spp.
M2-Disk Diffusion

Table 2B-3. Zone Diameter Interpretive Standards and Equivalent Minimal Inhibitory Concentration (MIC) Breakpoints for *Burkholderia cepacia*

Testing Conditions

Medium: Mueller-Hinton agar
Inoculum: Growth method or direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation: 35 ± 2 °C; ambient air; 20 to 24 hours

Minimal QC Recommendations (See Table 3 for acceptable QC ranges.)

Escherichia coli ATCC® 25922
Pseudomonas aeruginosa ATCC® 27853
Escherichia coli ATCC® 35218 (for β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations)

General Comments

(1) Other agents may be approved for therapy, but their performance has not been sufficiently studied to establish disk diffusion breakpoints.

(2) Measure the diameter of the zones of complete inhibition (as judged by the unaided eye), including the diameter of the disk. Hold the petri plate a few inches above a black, nonreflecting background illuminated with reflected light. The zone margin should be considered the area showing no obvious, visible growth that can be detected with the unaided eye. Ignore faint growth of tiny colonies that can be detected only with a magnifying lens at the edge of the zone of inhibited growth. With trimethoprim and the sulfonamides, antagonists in the medium may allow some slight growth; therefore, disregard slight growth (20% or less of the lawn of growth) and measure the more obvious margin to determine the zone diameter.

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole mm			Equivalent MIC Breakpoints (μg/mL)		Comments
			R	I	S	R	S	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)								
B	Ceftazidime	30 μg	≤ 17	18-20	≥ 21	≥ 32	≤ 8	
CARBAPENEMS								
B	Meropenem	10 μg	≤ 15	16-19	≥ 20	≥ 16	≤ 4	
TETRACYCLINES								
B	Minocycline	30 μg	≤ 14	15-18	≥ 19	≥ 16	≤ 4	
FOLATE PATHWAY INHIBITORS								
A	Trimethoprim-sulfamethoxazole	1.25/23.75 μg	≤ 10	11-15	≥ 16	≥ 8/152	≤ 2/38	

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2B-4. Zone Diameter Interpretive Standards and Equivalent Minimal Inhibitory Concentration (MIC) Breakpoints for *Stenotrophomonas maltophilia*

Testing Conditions	**Minimal QC Recommendations** (See Table 3 for acceptable QC ranges.)
Medium: Mueller-Hinton agar **Inoculum:** Growth method or direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard **Incubation:** 35 ± 2 °C; ambient air; 20 to 24 hours	*Escherichia coli* ATCC® 25922 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853 *Escherichia coli* ATCC® 35218 (for β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations)

General Comments

(1) Other agents may be approved for therapy, but their performance has not been sufficiently studied to establish disk diffusion breakpoints.

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole mm			Equivalent MIC Breakpoints (μg/mL)		Comments
			R	I	S	R	S	
TETRACYCLINES								
B	Minocycline	30 μg	≤ 14	15-18	≥ 19	≥ 16	≤ 4	
FLUOROQUINOLONES								
B	Levofloxacin	5 μg	≤ 13	14-16	≥ 17	≥ 8	≤ 2	
FOLATE PATHWAY INHIBITORS								
A	Trimethoprim-sulfamethoxazole	1.25/23.75 μg	≤ 10	11-15	≥ 16	≥ 8/152	≤ 2/38	

Table 2B-4
Stenotrophomonas maltophilia
M2-Disk Diffusion

Table 2C. Zone Diameter Interpretive Standards and Equivalent Minimal Inhibitory Concentration (MIC) Breakpoints for *Staphylococcus* spp.

Testing Conditions

Medium: Mueller-Hinton agar
Inoculum: Direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation: 35 ± 2 °C; ambient air; 16 to 18 hours; 24 hours for oxacillin, methicillin, nafcillin, and vancomycin. Testing at temperatures above 35 °C may not detect MRS.

Minimal QC Recommendations (See Table 3 for acceptable QC ranges.)

Staphylococcus aureus ATCC® 25923
Escherichia coli ATCC® 35218 (for β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations)

Staphylococcus aureus ATCC® BAA-977 and *Staphylococcus aureus* ATCC® BAA-976 (for quality assessment of the clindamycin induction test)

General Comments

(1) Historically, resistance to the penicillinase-stable penicillins (see Glossary I) has been referred to as "methicillin resistance"; thus, the acronyms MRSA (for "methicillin-resistant *S. aureus*") or MRS (for "methicillin-resistant staphylococci") are still commonly used, even though methicillin is no longer the agent of choice for testing or treatment. In this document, resistance to these agents may be referred to using several terms (eg, "MRS," "methicillin resistance," or "oxacillin resistance").

(2) **Measure the diameter of the zones of complete inhibition (as judged by the unaided eye), including the diameter of the disk. Hold the petri plate a few inches above a black, nonreflecting background illuminated with reflected light, except for linezolid, oxacillin, and vancomycin, which should be read with transmitted light (plate held up to light source). The zone margin should be considered the area showing no obvious, visible growth that can be detected with the unaided eye. Ignore faint growth of tiny colonies that can be detected only with a magnifying lens at the edge of the zone of inhibited growth. With trimethoprim and the sulfonamides, antagonists in the medium may allow some slight growth; therefore, disregard slight growth (20% or less of the lawn of growth) and measure the more obvious margin to determine the zone diameter. Any discernable growth within the zone of inhibition is indicative of oxacillin, linezolid, or vancomycin resistance.**

(3) For oxacillin-susceptible *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci, results for parenteral and oral cephems, β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations, and carbapenems, if tested, should be reported according to the results generated using routine interpretive criteria. See comment (4) for reporting β-lactam results on oxacillin-resistant strains.

(4) **WARNING:** For oxacillin-resistant *S. aureus* and coagulase-negative staphylococci (MRS), other β-lactam agents, ie, penicillins, β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations, cephems, and carbapenems, may appear active *in vitro,* but are not effective clinically. Results for these drugs should be reported as resistant or should not be reported. This is because most cases of documented MRS infections have responded poorly to β-lactam therapy, or because convincing clinical data have yet to be presented that document clinical efficacy for those agents.

(5) Detection of oxacillin resistance: Tests for *mec*A or for the protein expressed by *mec*A, the penicillin-binding protein 2a (PBP 2a, also called PBP2'), are the most accurate methods for prediction of resistance to oxacillin and can be used to confirm disk test results for isolates of staphylococci from serious infections. Isolates of staphylococci that carry the *mec*A gene, or that produce PBP 2a (the *mec*A gene product), should be reported as oxacillin resistant. Isolates that do not carry *mec*A or do not produce PBP 2a should be reported as oxacillin-susceptible. Because of the rare occurrence of resistance mechanisms other than *mec*A, if MIC tests are performed in addition to disk diffusion, isolates for which oxacillin MICs are ≥4 μg/mL and are *mec*A negative or PBP 2a negative should be reported as oxacillin resistant. These isolates may test as susceptible to cefoxitin by disk diffusion.

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2C. (Continued)

(6) Routine testing of urine isolates of *S. saprophyticus* is not advised, because infections respond to concentrations achieved in urine of antimicrobial agents commonly used to treat acute, uncomplicated urinary tract infections (eg, nitrofurantoin, trimethoprim ± sulfamethoxazole, or a fluoroquinolone).

(7) For some organism/antimicrobial agent combinations, the absence or rare occurrence of resistant strains precludes defining any results categories other than "susceptible." For strains yielding results suggestive of a "nonsusceptible" category, organism identification and antimicrobial susceptibility test results should be confirmed. Subsequently, the isolates should be saved and submitted to a reference laboratory that will confirm results using a CLSI reference dilution method.

(8) For screening tests for beta-lactamase production, oxacillin resistance, *mec*A-mediated oxacillin resistance using cefoxitin, reduced susceptibility to vancomycin, and inducible clindamycin resistance, refer to Appendix B for *Staphylococcus aureus* group and Appendix C for coagulase-negative staphylococci.

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole mm			Equivalent MIC Breakpoints (µg/mL)		Comments
			R	I	S	R	S	
PENICILLINS								(9) Penicillin-susceptible staphylococci are also susceptible to other penicillins, β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations, cephems, and carbapenems approved for use by the FDA for staphylococcal infections. Penicillin-resistant, oxacillin-susceptible strains are resistant to penicillinase-labile penicillins but susceptible to other penicillinase-stable penicillins, β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations, relevant cephems, and carbapenems. Oxacillin-resistant staphylococci are resistant to all currently available β-lactam antibiotics. Thus, susceptibility or resistance to a wide array of β-lactam antibiotics may be deduced from testing only penicillin and oxacillin. Routine testing of other penicillins, β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations, cephems, and carbapenems is not advised. See comment (4).
A	Penicillin	10 units	≤ 28	-	≥ 29	β-lactamase	≤ 0.12	(10) Penicillin-resistant, oxacillin-susceptible strains of *Staphylococcus aureus* produce β-lactamase, and the testing of the 10-unit penicillin disk instead of the ampicillin disk is preferred. Penicillin should be used to test the susceptibility of all β-lactamase-labile penicillins, such as ampicillin, amoxicillin, azlocillin, carbenicillin, mezlocillin, piperacillin, and ticarcillin. Likewise, a positive β-lactamase test (see M2-A9, Section 13.2) predicts resistance to these agents. For oxacillin-resistant staphylococci, report penicillin as resistant or do not report.

© Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2C. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole mm			Equivalent MIC Breakpoints (μg/mL)		Comments
			R	I	S	R	S	
PENICILLINS (Continued)								
A	Oxacillin	30 μg cefoxitin	≤ 21	-	≥ 22	≥ 4 (oxacillin)	≤ 2	For *S. aureus* and *S. lugdunensis*.
		1 μg oxacillin	≤ 10	11-12	≥ 13	≥ 4	≤ 2	For *S. aureus*. (11) For *S. aureus*, the cefoxitin disk test is comparable to the oxacillin disk test for prediction of *mec*A-mediated resistance to oxacillin; however, the cefoxitin disk test is easier to read and thus is the preferred method. For *S. lugdunensis*, only the cefoxitin disk test should be used. In this case, cefoxitin is used as a surrogate to report oxacillin. Based on the cefoxitin result, report oxacillin as susceptible or resistant **(see Appendix B)**. (12) If oxacillin intermediate results are obtained for *S. aureus*, perform testing for *mec*A or PBP 2a, the cefoxitin disk test, an oxacillin MIC test, or the oxacillin-salt agar screening test. Report the result of the alternative test rather than the intermediate result.
		30 μg cefoxitin	≤ 24	-	≥ 25	≥ 0.5 (oxacillin)	≤ 0.25	For coagulase-negative staphylococci except *S. lugdunensis*.
		1 μg oxacillin	≤ 17	-	≥ 18	≥ 0.5	≤ 0.25	For coagulase-negative staphylococci except *S. lugdunensis*. (13) The cefoxitin disk test is the preferred method for testing coagulase-negative staphylococci. Although oxacillin interpretive criteria for coagulase-negative staphylococci correlate with the presence or absence of the gene encoding methicillin/oxacillin resistance (*mec*A) in *S. epidermidis*, these interpretive criteria may overcall resistance for other coagulase-negative staphylococci (eg, *S. saprophyticus*). The cefoxitin disk test has higher specificity and equal sensitivity to the oxacillin disk test for coagulase-negative staphylococci. In this case, cefoxitin is used as a surrogate to report oxacillin. Based on the cefoxitin result, report oxacillin as susceptible or resistant **(see Appendix C)**. (14) If a penicillinase-stable penicillin is tested, oxacillin is the preferred agent and results can be applied to the other penicillinase-stable penicillins, cloxacillin, dicloxacillin, and flucloxacillin. Oxacillin is more resistant to degradation in storage and is more likely to detect heteroresistant staphylococcal strains. Cloxacillin disks should not be used, because they may not detect oxacillin-resistant *S. aureus*. Cefoxitin may be tested instead of oxacillin. See comments (11), (12), (13), and (15). (15) For all staphylococci, read the oxacillin disk for light growth within the zone of inhibition using transmitted light (plate held up to light); any discernable growth within the zone of inhibition is indicative of oxacillin resistance. Read the cefoxitin disk using reflected light.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 2C. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole mm			Equivalent MIC Breakpoints (μg/mL)		Comments
			R	I	S	R	S	
PENICILLINS (Continued)								
O	Ampicillin	10 μg	≤ 28	-	≥ 29	β-lactamase	≤ 0.25	(16) Class representative for ampicillin and amoxicillin. (17) For oxacillin-resistant staphylococci, report as resistant or do not report.
O	Methicillin	5 μg	≤ 9	10-13	≥ 14	≥ 16	≤ 8	(18) Disk diffusion breakpoints are for use with *S. aureus* only. See comment (14).
O	Nafcillin	1 μg	≤ 10	11-12	≥ 13	-	≤ 1	(19) Disk diffusion breakpoints are for use with *S. aureus* only. See comment (14).
β-LACTAM/β-LACTAMASE INHIBITOR COMBINATIONS								See comments (4) and (9). (20) For oxacillin-resistant staphylococci, report as resistant or do not report.
O	Amoxicillin-clavulanic acid	20/10 μg	≤ 19	-	≥ 20	≥ 8/4	≤ 4/2	
O	Ampicillin-sulbactam	10/10 μg	≤ 11	12-14	≥ 15	≥ 32/16	≤ 8/4	
O	Piperacillin-tazobactam	100/10 μg	≤ 17	-	≥ 18	≥ 16/4	≤ 8/4	
O	Ticarcillin-clavulanic acid	75/10 μg	≤ 22	-	≥ 23	≥ 16/2	≤ 8/2	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)								See comments (4) and (9). (21) For oxacillin-resistant staphylococci, report as resistant or do not report.
O	Cefamandole	30 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
O	Cefazolin	30 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
O	Cefepime	30 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
O	Cefmetazole	30 μg	≤ 12	13-15	≥ 16	≥ 64	≤ 16	
O	Cefonicid	30 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
O	Cefoperazone	75 μg	≤ 15	16-20	≥ 21	≥ 64	≤ 16	
O	Cefotaxime	30 μg	≤ 14	15-22	≥ 23	≥ 64	≤ 8	
O	Cefotetan	30 μg	≤ 12	13-15	≥ 16	≥ 64	≤ 16	
O	Ceftazidime	30 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
O	Ceftizoxime	30 μg	≤ 14	15-19	≥ 20	≥ 32	≤ 8	
O	Ceftriaxone	30 μg	≤ 13	14-20	≥ 21	≥ 64	≤ 8	
O	Cefuroxime (parenteral)	30 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
O	Cephalothin	30 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
O	Moxalactam	30 μg	≤ 14	15-22	≥ 23	≥ 64	≤ 8	
CEPHEMS (ORAL)								See comments (4) and (9). (22) For oxacillin-resistant staphylococci, report as resistant or do not report.
O	Cefaclor	30 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
O	Cefdinir	5 μg	≤ 16	17-19	≥ 20	≥ 4	≤ 1	
O	Cefpodoxime	10 μg	≤ 17	18-20	≥ 21	≥ 8	≤ 2	
O	Cefprozil	30 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
O	Cefuroxime (oral)	30 μg	≤ 14	15-22	≥ 23	≥ 32	≤ 4	
O	Loracarbef	30 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	

© Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2C
Staphylococcus spp.
M2-Disk Diffusion

Table 2C. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole mm			Equivalent MIC Breakpoints (μg/mL)		Comments
			R	I	S	R	S	
CARBAPENEMS								See comment (9). (23) For oxacillin-resistant staphylococci, report as resistant or do not report.
O	Ertapenem	10 μg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 8	≤ 2	
O	Imipenem	10 μg	≤ 13	14-15	≥ 16	≥ 16	≤ 4	
O	Meropenem	10 μg	≤ 13	14-15	≥ 16	≥ 16	≤ 4	
GLYCOPEPTIDES								
B	Vancomycin	30 μg	-	-	≥ 15	-	≤ 2	(24) All staphylococcal isolates for which vancomycin zone diameters are 14 mm or less should be tested by a reference MIC method. The disk diffusion procedure will not differentiate strains with reduced susceptibility to vancomycin (MICs 4 to 8 μg/mL) from susceptible strains (MIC range 0.5 to 2 μg/mL) even when incubated for 24 hours. Additionally, vancomycin-resistant *S. aureus* (VRSA) strains (MICs ≥16 μg/mL) may produce only subtle growth around a vancomycin disk. A BHI vancomycin agar screen plate containing 6 μg/mL of vancomycin may be inoculated to enhance the sensitivity of detecting vancomycin-intermediate and vancomycin-resistant strains of *S. aureus* **(see Appendix B)**.
Inv.	Teicoplanin	30 μg	≤ 10	11-13	≥ 14	≥ 32	≤ 8	
AMINOGLYCOSIDES								
C	Gentamicin	10 μg	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 8	≤ 4	
O	Amikacin	30 μg	≤ 14	15-16	≥ 17	≥ 32	≤ 16	
O	Kanamycin	30 μg	≤ 13	14-17	≥ 18	≥ 25	≤ 6	
O	Netilmicin	30 μg	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 32	≤ 12	
O	Tobramycin	10 μg	≤ 12	13-14	≥ 15	≥ 8	≤ 4	
MACROLIDES								(25) Not routinely reported on isolates from the urinary tract.
A	Azithromycin or	15 μg	≤ 13	14-17	≥ 18	≥ 8	≤ 2	
A	clarithromycin or	15 μg	≤ 13	14-17	≥ 18	≥ 8	≤ 2	
A	erythromycin	15 μg	≤ 13	14-22	≥ 23	≥ 8	≤ 0.5	
O	Dirithromycin	15 μg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 8	≤ 2	
KETOLIDES								
B	Telithromycin	15 μg	≤ 18	19-21	≥ 22	≥ 4	≤ 1	

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2C. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole mm			Equivalent MIC Breakpoints (µg/mL)		Comments
			R	I	S	R	S	
TETRACYCLINES								(26) Organisms that are susceptible to tetracycline are also considered susceptible to doxycycline and minocycline. However, some organisms that are intermediate or resistant to tetracycline may be susceptible to doxycycline or minocycline or both.
B	Tetracycline	30 µg	≤ 14	15-18	≥ 19	≥ 16	≤ 4	
B	Doxycycline	30 µg	≤ 12	13-15	≥ 16	≥ 16	≤ 4	
O	Minocycline	30 µg	≤ 14	15-18	≥ 19	≥ 16	≤ 4	
FLUOROQUINOLONES								(27) *Staphylococcus* spp. may develop resistance during prolonged therapy with quinolones. Therefore, isolates that are initially susceptible may become resistant within three to four days after initiation of therapy. Testing of repeat isolates may be warranted.
C	Ciprofloxacin or	5 µg	≤ 15	16-20	≥ 21	≥ 4	≤ 1	
C	levofloxacin or	5 µg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 4	≤ 1	
C	ofloxacin	5 µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 4	≤ 1	
C	Moxifloxacin	5 µg	≤ 20	21-23	≥ 24	≥ 2	≤ 0.5	
U	Lomefloxacin	10 µg	≤ 18	19-21	≥ 22	≥ 8	≤ 2	
U	Norfloxacin	10 µg	≤ 12	13-16	≥ 17	≥ 16	≤ 4	
O	Enoxacin	10 µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 8	≤ 2	(28) FDA-approved for *S. saprophyticus* and *S. epidermidis* (not *S. aureus*).
O	Gatifloxacin	5 µg	≤ 19	20-22	≥ 23	≥ 2	≤ 0.5	
O	Grepafloxacin	5 µg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 4	≤ 1	
O	Sparfloxacin	5 µg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 2	≤ 0.5	
Inv.	Fleroxacin	5 µg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 8	≤ 2	
NITROFURANTOINS								
U	Nitrofurantoin	300 µg	≤ 14	15-16	≥ 17	≥ 128	≤ 32	

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2C
Staphylococcus spp.
M2-Disk Diffusion

Table 2C. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole mm			Equivalent MIC Breakpoints (μg/mL)		Comments
			R	I	S	R	S	
LINCOSAMIDES								
A	Clindamycin	2 μg	≤ 14	15-20	≥ 21	≥ 4	≤ 0.5	(29) Macrolide-resistant isolates of *S. aureus* and coagulase-negative *Staphylococcus* spp. may have constitutive or inducible resistance to clindamycin (methylation of the 23S rRNA encoded by the *erm* gene also referred to as MLS_B [macrolide, lincosamide, and type B streptogramin] resistance) or may be resistant only to macrolides (efflux-mechanism encoded by the *msr*A gene). Inducible clindamycin resistance can be detected using a disk approximation test by placing a 2-μg clindamycin disk from 15 mm to 26 mm away from the edge of a 15-μg erythromycin disk as part of the normal disk diffusion procedure. Following incubation, organisms that do not show flattening of the clindamycin zone should be reported as clindamycin susceptible. Organisms that show flattening of the clindamycin zone adjacent to the erythromycin disk (referred to as a "D" zone) indicate inducible clindamycin resistance. Such isolates should be reported as "clindamycin resistant." **Organisms that show hazy growth throughout the zone of inhibition around the clindamycin disk should be reported as clindamycin resistant, whether or not they show a D-zone.** A comment that "This isolate is presumed to be resistant based on detection of inducible clindamycin resistance. Clindamycin may still be effective in some patients." may be included. For quality control/quality assessment recommendations, refer to Table 3. See comment (25).
FOLATE PATHWAY INHIBITORS								
A	Trimethoprim-sulfamethoxazole	1.25/23.75 μg	≤ 10	11-15	≥ 16	≥ 8/152	≤ 2/38	
U	Sulfonamides	250 or 300 μg	≤ 12	13-16	≥ 17	≥ 350	≤ 100	(30) The sulfisoxazole disk can be used to represent any of the currently available sulfonamide preparations.
U	Trimethoprim	5 μg	≤ 10	11-15	≥ 16	≥ 16	≤ 4	
PHENICOLS								
C	Chloramphenicol	30 μg	≤ 12	13-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	See comment (25).
ANSAMYCINS								
B	Rifampin	5 μg	≤ 16	17-19	≥ 20	≥ 4	≤ 1	(31) ***Rx*:** Rifampin should not be used alone for antimicrobial therapy.
STREPTOGRAMINS								
C	Quinupristin-dalfopristin	15 μg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 4	≤ 1	
OXAZOLIDINONES								
B	Linezolid	30 μg	-	-	≥ 21	-	≤ 4	See comment (7). **(32) When testing linezolid, disk diffusion zones should be examined using transmitted light. Organisms with nonsusceptible results should be confirmed using an MIC method.**

© Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

This page is intentionally left blank.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 2D. Zone Diameter Interpretive Standards and Equivalent Minimal Inhibitory Concentration (MIC) Breakpoints for *Enterococcus* spp.

Testing Conditions	
Medium:	Mueller-Hinton agar
Inoculum:	Growth method or direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation:	35 ± 2 °C; ambient air; 16 to 18 hours; 24 hours for vancomycin

Minimal QC Recommendations (See Table 3 for acceptable QC ranges.)

Staphylococcus aureus ATCC® 25923

General Comments

(1) **WARNING:** For *Enterococcus* spp., cephalosporins, aminoglycosides (except for high-level resistance screening), clindamycin, and trimethoprim-sulfamethoxazole may appear active *in vitro*, but are not effective clinically, and isolates should not be reported as susceptible.

(2) **Measure the diameter of the zones of complete inhibition (as judged by the unaided eye), including the diameter of the disk. Hold the petri plate a few inches above a black, nonreflecting background illuminated with reflected light, <u>except for vancomycin, which should be read using transmitted light (plate held up to light source).</u> The zone margin should be considered the area showing no obvious, visible growth that can be detected with the unaided eye. Ignore faint growth of tiny colonies that can be detected only with a magnifying lens at the edge of the zone of inhibited growth. <u>Any discernable growth within the zone of inhibition is indicative of vancomycin resistance.</u>**

(3) Synergy between ampicillin, penicillin, or vancomycin and an aminoglycoside can be predicted for enterococci by using a high-level aminoglycoside (gentamicin and streptomycin) screening test. Other aminoglycosides need not be tested, because their activities against enterococci are not superior to gentamicin and streptomycin. **Refer to Appendix D for screening tests for high-level aminoglycoside resistance (HLAR).**

(4) For some organism/antimicrobial agent combinations, the absence or rare occurrence of resistant strains precludes defining any results categories other than “susceptible.” For strains yielding results suggestive of a “nonsusceptible” category, organism identification and antimicrobial susceptibility test results should be confirmed. Subsequently, the isolates should be saved and submitted to a reference laboratory that will confirm results using a CLSI reference dilution method.

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2D. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole mm			Equivalent MIC Breakpoints (μg/mL)		Comments
			R	I	S	R	S	
PENICILLINS								
A	Penicillin	10 units	≤ 14	-	≥ 15	≥ 16	≤ 8	(5) Ampicillin is the class representative for ampicillin and amoxicillin. Ampicillin results may be used to predict susceptibility to amoxicillin-clavulanic acid, ampicillin-sulbactam, piperacillin, and piperacillin-tazobactam among non-β-lactamase-producing enterococci. Ampicillin susceptibility can be used to predict imipenem susceptibility, providing the species is confirmed to be *E. faecalis*. (6) Enterococci susceptible to penicillin are predictably susceptible to ampicillin, amoxicillin, ampicillin-sulbactam, amoxicillin-clavulanate, piperacillin, and piperacillin-tazobactam for non-ß-lactamase-producing enterococci. However, enterococci susceptible to ampicillin cannot be assumed to be susceptible to penicillin. If penicillin results are needed, testing of penicillin is required. (7) ***Rx:*** Combination therapy of ampicillin, penicillin, or vancomycin (for susceptible strains), plus an aminoglycoside, is usually indicated for serious enterococcal infections, such as endocarditis, unless high-level resistance to both gentamicin and streptomycin is documented; such combinations are predicted to result in synergistic killing of the enterococcus. (8) Because ampicillin or penicillin resistance among enterococci due to β-lactamase production is not reliably detected using routine disk or dilution methods, a direct, nitrocefin-based β-lactamase test is recommended for blood and cerebrospinal fluid isolates. A positive β-lactamase test predicts resistance to penicillin, as well as amino-, carboxy-, and ureidopenicillins.
A	Ampicillin	10 μg	≤ 16	-	≥ 17	≥ 16	≤ 8	
GLYCOPEPTIDES								
B	Vancomycin	30 μg	≤ 14	15-16	≥ 17	≥ 32	≤ 4	(9) When testing vancomycin against enterococci, plates should be held a full 24 hours and examined using transmitted light; the presence of a haze or any growth within the zone of inhibition indicates resistance. Organisms with intermediate zones should be tested by an MIC method as described in CLSI document M7. See also the vancomycin agar screen test described in **Appendix D**. See comments (3) and (7).
Inv.	Teicoplanin	30 μg	≤ 10	11-13	≥ 14	≥ 32	≤ 8	
MACROLIDES								
O	Erythromycin	15 μg	≤ 13	14-22	≥ 23	≥ 8	≤ 0.5	(10) Not routinely reported on isolates from the urinary tract.

Table 2D
Enterococcus spp.
M2-Disk Diffusion

Table 2D. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole mm			Equivalent MIC Breakpoints (μg/mL)		Comments
			R	I	S	R	S	
TETRACYCLINES								(11) Organisms that are susceptible to tetracycline are also considered susceptible to doxycycline and minocycline. However, some organisms that are intermediate or resistant to tetracycline may be susceptible to doxycycline or minocycline or both.
U	Tetracycline	30 μg	≤ 14	15-18	≥ 19	≥ 16	≤ 4	
O	Doxycycline	30 μg	≤ 12	13-15	≥ 16	≥ 16	≤ 4	
O	Minocycline	30 μg	≤ 14	15-18	≥ 19	≥ 16	≤ 4	
FLUOROQUINOLONES								
U	Ciprofloxacin	5 μg	≤ 15	16-20	≥ 21	≥ 4	≤ 1	
U	Levofloxacin	5 μg	≤ 13	14-16	≥ 17	≥ 8	≤ 2	
U	Norfloxacin	10 μg	≤ 12	13-16	≥ 17	≥ 16	≤ 4	
O	Gatifloxacin	5 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 8	≤ 2	(12) This breakpoint applies to urinary tract isolates only.
NITROFURANTOINS								
U	Nitrofurantoin	300 μg	≤ 14	15-16	≥ 17	≥ 128	≤ 32	
ANSAMYCINS								
O	Rifampin	5 μg	≤ 16	17-19	≥ 20	≥ 4	≤ 1	(13) ***Rx:*** Rifampin should not be used alone for antimicrobial therapy.
FOSFOMYCINS								
O	Fosfomycin	200 μg	≤ 12	13-15	≥ 16	≥ 256	≤ 64	(14) For use **against** *E. faecalis* **urinary tract isolates only.** The 200-μg fosfomycin disk contains 50 μg of glucose-6-phosphate.
PHENICOLS								
O	Chloramphenicol	30 μg	≤ 12	13-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	See comment (10).
STREPTOGRAMINS								
B	Quinupristin-dalfopristin	15 μg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 4	≤ 1	
OXAZOLIDINONES								
B	Linezolid	30 μg	≤ 20	21-22	≥ 23	≥ 8	≤ 2	

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

This page is intentionally left blank.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 2E. Zone Diameter Interpretive Standards and Equivalent Minimal Inhibitory Concentration (MIC) Breakpoints for *Haemophilus influenzae* and *H. parainfluenzae*

Testing Conditions	
Medium:	*Haemophilus* Test Medium (HTM)
Inoculum:	Direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation:	35 ± 2 °C; 5% CO_2; 16 to 18 hours

Minimal QC Recommendations (See Table 3A for acceptable QC ranges.)

Haemophilus influenzae ATCC® 49247
Haemophilus influenzae ATCC® 49766
Escherichia coli ATCC® 35218 (when testing amoxicillin-clavulanic acid)

General Comments

(1) Only results of testing with ampicillin, one of the third-generation cephalosporins, chloramphenicol, and meropenem should be reported routinely with CSF isolates of *Haemophilus influenzae*.

(2) **Measure the diameter of the zones of complete inhibition (as judged by the unaided eye), including the diameter of the disk. Hold the petri plate a few inches above a black, nonreflecting background illuminated with reflected light. The zone margin should be considered the area showing no obvious, visible growth that can be detected with the unaided eye. Ignore faint growth of tiny colonies that can be detected only with a magnifying lens at the edge of the zone of inhibited growth. With trimethoprim and the sulfonamides, antagonists in the medium may allow some slight growth; therefore, disregard slight growth (20% or less of the lawn of growth) and measure the more obvious margin to determine the zone diameter.**

(3) Amoxicillin-clavulanic acid, azithromycin, clarithromycin, cefaclor, cefprozil, loracarbef, cefdinir, cefixime, cefpodoxime, cefuroxime, and telithromycin are oral agents that may be used as empiric therapy for respiratory tract infections due to *Haemophilus* spp. The results of susceptibility tests with these antimicrobial agents are often not useful for management of individual patients. However, susceptibility testing of *Haemophilus* spp. with these compounds may be appropriate for surveillance or epidemiologic studies.

(4) To make HTM: a fresh hematin stock solution is prepared by dissolving 50 mg of hematin powder in 100 mL of 0.01 mol/L NaOH with heat and stirring until the powder is thoroughly dissolved. Then 30 mL of the hematin stock solution is added to 1 L of Mueller-Hinton agar with 5 g of yeast extract also added. After autoclaving and cooling, 3 mL of an NAD stock solution (50 mg of NAD dissolved in 10 mL of distilled water, filter sterilized) is added aseptically.

(5) For some organism/antimicrobial agent combinations, the absence or rare occurrence of resistant strains precludes defining any results categories other than "susceptible." For strains yielding results suggestive of a "nonsusceptible" category, organism identification and antimicrobial susceptibility test results should be confirmed. Subsequently, the isolates should be saved and submitted to a reference laboratory that will confirm results using a CLSI reference dilution method.

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole mm			Equivalent MIC Breakpoints (μg/mL)		Comments
			R	I	S	R	S	
PENICILLINS								
A	Ampicillin	10 μg	≤ 18	19-21	≥ 22	≥ 4	≤ 1	(6) The results of ampicillin susceptibility tests should be used to predict the activity of amoxicillin. In most cases, a direct β-lactamase test can provide a rapid means of detecting ampicillin and amoxicillin resistance. The majority of isolates of *H. influenzae* that are resistant to ampicillin and amoxicillin produce a TEM-type β-lactamase. (7) Rare β-lactamase-negative, ampicillin-resistant (BLNAR) strains of *H. influenzae* should be considered resistant to amoxicillin-clavulanic acid, ampicillin-sulbactam, cefaclor, cefetamet, cefonicid, cefprozil, cefuroxime, and loracarbef, despite apparent *in vitro* susceptibility of some BLNAR strains to these agents.

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2E. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole mm			Equivalent MIC Breakpoints (μg/mL)		Comments
			R	I	S	R	S	
β-LACTAM/β-LACTAMASE INHIBITOR COMBINATIONS								See comment (7).
O	Amoxicillin-clavulanic acid	20/10 μg	≤ 19	-	≥ 20	≥ 8/4	≤ 4/2	
O	Ampicillin-sulbactam	10/10 μg	≤ 19	-	≥ 20	≥ 4/2	≤ 2/1	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)								See comment (7).
B	Cefotaxime or	30 μg	-	-	≥ 26	-	≤ 2	See comment (5).
B	ceftazidime or	30 μg	-	-	≥ 26	-	≤ 2	
B	ceftriaxone	30 μg	-	-	≥ 26	-	≤ 2	
B	Cefuroxime (parenteral)	30 μg	≤ 16	17-19	≥ 20	≥ 16	≤ 4	
C	Cefonicid	30 μg	≤ 16	17-19	≥ 20	≥ 16	≤ 4	
O	Cefepime	30 μg	-	-	≥ 26	-	≤ 2	See comment (5).
O	Ceftizoxime	30 μg	-	-	≥ 26	-	≤ 2	**See comment (5).**
CEPHEMS (ORAL)								See comment (7).
C	Cefaclor	30 μg	≤ 16	17-19	≥ 20	≥ 32	≤ 8	
C	Cefprozil	30 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	
O	Loracarbef	30 μg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 32	≤ 8	
C	Cefdinir or	5 μg	-	-	≥ 20	-	≤ 1	See comment (5).
C	cefixime or	5 μg	-	-	≥ 21	-	≤ 1	
C	cefpodoxime	10 μg	-	-	≥ 21	-	≤ 2	
C	Cefuroxime (oral)	30 μg	≤ 16	17-19	≥ 20	≥ 16	≤ 4	
O	Ceftibuten	30 μg	-	-	≥ 28	-	≤ 2	See comment (5).
Inv.	Cefetamet	10 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 16	≤ 4	
CARBAPENEMS								
B	Meropenem	10 μg	-	-	≥ 20	-	≤ 0.5	See comment (5).
C	Ertapenem or	10 μg	-	-	≥ 19	-	≤ 0.5	See comment (5).
C	imipenem	10 μg	-	-	≥ 16	-	≤ 4	
MONOBACTAMS								
C	Aztreonam	30 μg	-	-	≥ 26	-	≤ 2	See comment (5).
MACROLIDES								
C	Azithromycin	15 μg	-	-	≥ 12	-	≤ 4	See comment (5).
C	Clarithromycin	15 μg	≤ 10	11-12	≥ 13	≥ 32	≤ 8	
KETOLIDES								
C	Telithromycin	15 μg	≤ 11	12-14	≥ 15	≥ 16	≤ 4	
TETRACYCLINES								
C	Tetracycline	30 μg	≤ 25	26-28	≥ 29	≥ 8	≤ 2	(8) Organisms that are susceptible to tetracycline are also considered susceptible to doxycycline and minocycline.

Table 2E
Haemophilus spp.
M2-Disk Diffusion

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2E. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole mm			Equivalent MIC Breakpoints (µg/mL)		Comments
			R	I	S	R	S	
FLUOROQUINOLONES								See comment (5).
C	Ciprofloxacin or	5 µg	-	-	≥ 21	-	≤ 1	
C	levofloxacin or	5 µg	-	-	≥ 17	-	≤ 2	
C	lomefloxacin or	10 µg	-	-	≥ 22	-	≤ 2	
C	moxifloxacin or	5 µg	-	-	≥ 18	-	≤ 1	
C	ofloxacin	5 µg	-	-	≥ 16	-	≤ 2	
O	Gatifloxacin	5 µg	-	-	≥ 18	-	≤ 1	
O	Gemifloxacin	5 µg	-	-	≥ 18	-	≤ 0.12	
O	Grepafloxacin	5 µg	-	-	≥ 24	-	≤ 0.5	
O	Trovafloxacin	10 µg	-	-	≥ 22	-	≤ 1	
Inv.	Fleroxacin	5 µg	-	-	≥ 19	-	≤ 2	
FOLATE PATHWAY INHIBITORS								
A	Trimethoprim-sulfamethoxazole	1.25/23.75 µg	≤ 10	11-15	≥ 16	≥ 4/76	≤ 0.5/9.5	
PHENICOLS								
B	Chloramphenicol	30 µg	≤ 25	26-28	≥ 29	≥ 8	≤ 2	(9) Not routinely reported on isolates from the urinary tract.
ANSAMYCINS								
C	Rifampin	5 µg	≤ 16	17-19	≥ 20	≥ 4	≤ 1	

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

This page is intentionally left blank.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 2F. Zone Diameter Interpretive Standards and Equivalent Minimal Inhibitory Concentration (MIC) Breakpoints for *Neisseria gonorrhoeae*

Testing Conditions

Medium: GC agar base and 1% defined growth supplement
The use of a cysteine-free growth supplement is not required for disk diffusion testing.

Inoculum: Direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard

Incubation: 36 ± 1 °C (do not exceed 37 °C); 5% CO_2; 20 to 24 hours

Minimal QC Recommendations (See Table 3A for acceptable QC ranges.)

Neisseria gonorrhoeae ATCC® 49226

General Comments

(1) For *N. gonorrhoeae*, an intermediate result for an antimicrobial agent indicates either a technical problem that should be resolved by repeat testing or a lack of clinical experience in treating organisms with these zones. The latter seems to be the case for cefmetazole, cefotetan, cefoxitin, and spectinomycin. Strains with intermediate zones with the other agents have a documented lower clinical cure rate (85 to 95%) compared to >95% for susceptible strains.

(2) **Measure the diameter of the zones of complete inhibition (as judged by the unaided eye), including the diameter of the disk. Measure the zones from the upper surface of the agar illuminated with reflected light, with the cover removed. The zone margin should be considered the area showing no obvious, visible growth that can be detected with the unaided eye. Ignore faint growth of tiny colonies that can be detected only with a magnifying lens at the edge of the zone of inhibited growth.**

(3) The recommended medium for testing *N. gonorrhoeae* consists of GC agar to which a 1% defined growth supplement (1.1 g L-cysteine, 0.03 g guanine HCL, 3 mg thiamine HCL, 13 mg PABA, 0.01 g B12, 0.1 g cocarboxylase, 0.25 g NAD, 1 g adenine, 10 g L-glutamine, 100 g glucose, 0.02 g ferric nitrate [in 1 L H_2O]) is added after autoclaving.

(4) For some organism/antimicrobial agent combinations, the absence or rare occurrence of resistant strains precludes defining any results categories other than "susceptible." For strains yielding results suggestive of a "nonsusceptible" category, organism identification and antimicrobial susceptibility test results should be confirmed. Subsequently, the isolates should be saved and submitted to a reference laboratory that will confirm results using a CLSI reference dilution method.

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

© Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2F. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole mm			Equivalent MIC Breakpoints (µg/mL)		Comments
			R	I	S	R	S	
PENICILLINS								
C	Penicillin	10 units	≤ 26	27-46	≥ 47	≥ 2	≤ 0.06	(5) A positive β-lactamase test predicts resistance to penicillin, ampicillin, and amoxicillin. (6) A β-lactamase test will detect one form of penicillin resistance in *N. gonorrhoeae* and also may be used to provide epidemiologic information. Strains with chromosomally mediated resistance can be detected only by the disk diffusion method or the agar dilution MIC method. (7) Gonococci with 10-unit penicillin disk zone diameters of ≤ 19 mm are likely to be β-lactamase-producing strains. However, the β-lactamase test remains preferable to other susceptibility methods for rapid, accurate recognition of this plasmid-mediated penicillin resistance.
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)								
C	Cefotaxime or	30 µg	-	-	≥ 31	-	≤ 0.5	See comment (4).
C	ceftriaxone	30 µg	-	-	≥ 35	-	≤ 0.25	
C	Cefoxitin	30 µg	≤ 23	24-27	≥ 28	≥ 8	≤ 2	
C	Cefuroxime (parenteral)	30 µg	≤ 25	26-30	≥ 31	≥ 4	≤ 1	
O	Cefepime	30 µg	-	-	≥ 31	-	≤ 0.5	See comment (4).
O	Cefmetazole	30 µg	≤ 27	28-32	≥ 33	≥ 8	≤ 2	
O	Cefotetan	30 µg	≤ 19	20-25	≥ 26	≥ 8	≤ 2	
O	Ceftazidime	30 µg	-	-	≥ 31	-	≤ 0.5	See comment (4).
O	Ceftizoxime	30 µg	-	-	≥ 38	-	≤ 0.5	**See comment (4).**
CEPHEMS (ORAL)								
C	Cefixime or	5 µg	-	-	≥ 31	-	≤ 0.25	See comment (4).
C	cefpodoxime	10 µg	-	-	≥ 29	-	≤ 0.5	
Inv.	Cefetamet	10 µg	-	-	≥ 29	-	≤ 0.5	See comment (4).
TETRACYCLINES								
C	Tetracycline	30 µg	≤ 30	31-37	≥ 38	≥ 2	≤ 0.25	(8) Gonococci with 30-µg tetracycline disk zone diameters of ≤ 19 mm usually indicate a plasmid-mediated tetracycline-resistant *N. gonorrhoeae* (TRNG) isolate. These strains should be confirmed by a dilution test (MIC ≥ 16 µg/mL). Please refer to Table 2F in M7.

Table 2F
Neisseria gonorrhoeae
M2-Disk Diffusion

Table 2F. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole mm			Equivalent MIC Breakpoints (µg/mL)		Comments
			R	I	S	R	S	
FLUOROQUINOLONES								
C	Ciprofloxacin or	5 µg	≤ 27	28-40	≥ 41	≥ 1	≤ 0.06	
C	ofloxacin	5 µg	≤ 24	25-30	≥ 31	≥ 2	≤ 0.25	
O	Enoxacin	10 µg	≤ 31	32-35	≥ 36	≥ 2	≤ 0.5	
O	Gatifloxacin	5 µg	≤ 33	34-37	≥ 38	≥ 0.5	≤ 0.12	
O	Grepafloxacin	5 µg	≤ 27	28-36	≥ 37	≥ 1	≤ 0.06	
O	Lomefloxacin	10 µg	≤ 26	27-37	≥ 38	≥ 2	≤ 0.12	
O	Trovafloxacin	10 µg	-	-	≥ 34	-	≤ 0.25	See comment (4).
Inv.	Fleroxacin	5 µg	≤ 28	29-34	≥ 35	≥ 1	≤ 0.25	
AMINOCYCLITOLS								
C	Spectinomycin	100 µg	≤ 14	15-17	≥18	≥ 128	≤ 32	

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

This page is intentionally left blank.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 2G. Zone Diameter Interpretive Standards and Equivalent Minimal Inhibitory Concentration (MIC) Breakpoints for *Streptococcus pneumoniae*

Testing Conditions

Medium: Mueller-Hinton agar with 5% sheep blood
Inoculum: Direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation: 35 ± 2 °C; 5% CO_2; 20 to 24 hours

Minimal QC Recommendations (See Table 3A for acceptable QC ranges.)

Streptococcus pneumoniae ATCC® 49619

General Comments

(1) Amoxicillin, ampicillin, cefepime, cefotaxime, ceftriaxone, cefuroxime, ertapenem, imipenem, and meropenem may be used to treat pneumococcal infections; however, reliable disk diffusion susceptibility tests with these agents do not yet exist. Their *in vitro* activity is best determined using an MIC method.

(2) Penicillin and cefotaxime or ceftriaxone or meropenem should be tested by a reliable MIC method (such as that described in CLSI document M7) and reported routinely with CSF isolates of *S. pneumoniae*. Such isolates should also be tested against vancomycin using the MIC or disk method.

(3) **Measure the diameter of the zones of complete inhibition (as judged by the unaided eye), including the diameter of the disk. The zone margin should be considered the area showing no obvious, visible growth that can be detected with the unaided eye. Measure the zones from the upper surface of the agar illuminated with reflected light, with the cover removed. Ignore faint growth of tiny colonies that can be detected only with a magnifying lens at the edge of the zone of inhibited growth. With trimethoprim and the sulfonamides, antagonists in the medium may allow some slight growth; therefore, disregard slight growth (20% or less of the lawn of growth) and measure the more obvious margin to determine the zone diameter.**

(4) For some organism/antimicrobial agent combinations, the absence or rare occurrence of resistant strains precludes defining any results categories other than "susceptible." For strains yielding results suggestive of a "nonsusceptible" category, organism identification and antimicrobial susceptibility test results should be confirmed. Subsequently, the isolates should be saved and submitted to a reference laboratory that will confirm results using a CLSI reference dilution method.

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole mm			Equivalent MIC Breakpoints (μg/mL)		Comments
			R	I	S	R	S	
PENICILLINS								
A	Penicillin	1 μg oxacillin	-	-	≥ 20	-	≤ 0.06	(5) **A pneumococcal isolate** with oxacillin zone**s** ≥ 20 mm **or a penicillin** MIC ≤ 0.06 μg/mL **can be considered susceptible** to penicillin **V,** ampicillin, amoxicillin, amoxicillin-clavulanic acid, ampicillin-sulbactam, cefaclor, cefdinir, **cefditoren**, cefepime, cefotaxime, cefprozil, **ceftizoxime**, ceftriaxone, cefuroxime, cefpodoxime, ertapenem, imipenem, loracarbef, and meropenem for approved indications. (6) Penicillin MICs should be determined for those isolates with oxacillin zone diameters ≤ 19 mm, because zones of ≤ 19 mm occur with penicillin-resistant, intermediate, or certain susceptible strains **based upon the meningitis and oral penicillin V interpretive criteria given in M7, Table 2G**. Isolates should not be reported as penicillin-resistant or intermediate based solely on an oxacillin zone ≤ 19 mm.

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2G. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole mm			Equivalent MIC Breakpoints (μg/mL)		Comments
			R	I	S	R	S	
GLYCOPEPTIDES								
B	Vancomycin	30 μg	-	-	≥ 17	-	≤ 1	See comment (4).
MACROLIDES								(7) Susceptibility and resistance to azithromycin, clarithromycin, and dirithromycin can be predicted by using erythromycin. (8) Not routinely reported on isolates from the urinary tract.
A	Erythromycin	15 μg	≤ 15	16-20	≥ 21	≥ 1	≤ 0.25	
O	Azithromycin	15 μg	≤ 13	14-17	≥ 18	≥ 2	≤ 0.5	
O	Clarithromycin	15 μg	≤ 16	17-20	≥ 21	≥ 1	≤ 0.25	
O	Dirithromycin	15 μg	≤ 13	14-17	≥ 18	≥ 2	≤ 0.5	
KETOLIDES								
B	Telithromycin	15 μg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 4	≤ 1	
TETRACYCLINES								
B	Tetracycline	30 μg	≤ 18	19-22	≥ 23	≥ 8	≤ 2	(9) Organisms that are susceptible to tetracycline are also considered susceptible to doxycycline and minocycline.
FLUOROQUINOLONES								
B	Gemifloxacin	5 μg	≤ 19	20-22	≥ 23	≥ 0.5	≤ 0.12	
B	Levofloxacin	5 μg	≤ 13	14-16	≥ 17	≥ 8	≤ 2	
B	Moxifloxacin	5 μg	≤ 14	15-17	≥ 18	≥ 4	≤ 1	
B	Ofloxacin	5 μg	≤ 12	13-15	≥ 16	≥ 8	≤ 2	
O	Gatifloxacin	5 μg	≤ 17	18-20	≥ 21	≥ 4	≤ 1	
O	Grepafloxacin	5 μg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 2	≤ 0.5	
O	Sparfloxacin	5 μg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 2	≤ 0.5	
O	Trovafloxacin	10 μg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 4	≤ 1	
FOLATE PATHWAY INHIBITORS								
A	Trimethoprim-sulfamethoxazole	1.25/23.75 μg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 4/76	≤ 0.5/9.5	
PHENICOLS								
C	Chloramphenicol	30 μg	≤ 20	-	≥ 21	≥ 8	≤ 4	See comment (8).
ANSAMYCINS								
C	Rifampin	5 μg	≤ 16	17-18	≥ 19	≥ 4	≤ 1	(10) ***Rx:*** Rifampin should not be used alone for antimicrobial therapy.
LINCOSAMIDES								
B	Clindamycin	2 μg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 1	≤ 0.25	See comment (8).
STREPTOGRAMINS								
O	Quinupristin-dalfopristin	15 μg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 4	≤ 1	
OXAZOLIDINONES								
C	Linezolid	30 μg	-	-	≥ 21	-	≤ 2	See comment (4).

© Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2G
Streptococcus pneumoniae
M2-Disk Diffusion

Table 2H-1. Zone Diameter Interpretive Standards and Equivalent Minimal Inhibitory Concentration (MIC) Breakpoints for *Streptococcus* spp. Beta-hemolytic group

Testing Conditions	
Medium:	Mueller-Hinton agar with 5% sheep blood
Inoculum:	Direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation:	35 ± 2 °C; 5% CO_2; 20 to 24 hours

Minimal QC Recommendations (See Table 3A for acceptable QC ranges.)

Streptococcus pneumoniae ATCC® 49619

General Comments

(1) For this table, the beta-hemolytic group includes the large-colony-forming pyogenic strains of streptococci with Group A (*S. pyogenes*), C, or G antigens and strains with Group B (*S. agalactiae*) antigen. Small-colony-forming beta-hemolytic strains with Group A, C, F, or G antigens (*S. anginosus*, previously termed "*S. milleri*") are considered part of the viridans group, and interpretive criteria for the viridans group should be used (see Table 2H-2).

(2) **Measure the diameter of the zones of complete inhibition (as judged by the unaided eye), including the diameter of the disk. The zone margin should be considered the area showing no obvious, visible growth that can be detected with the unaided eye. Measure the zones from the upper surface of the agar illuminated with reflected light, with the cover removed. Ignore faint growth of tiny colonies that can be detected only with a magnifying lens at the edge of the zone of inhibited growth.**

(3) Susceptibility testing of penicillins and other β-lactams approved by FDA for treatment of *Streptococcus pyogenes* or *S. agalactiae* is not necessary for clinical purposes and need not be done routinely, since as with vancomycin, resistant strains have not been recognized. Interpretive criteria are provided for pharmaceutical development, epidemiology, or monitoring for emerging resistance. Any strain found to be nonsusceptible should be referred to a reference laboratory for confirmation.

(4) Interpretive criteria for **beta-hemolytic** streptococci are proposed based on population distributions of various species, pharmacokinetics of the antimicrobial agents, previously published literature, and the clinical experience of certain members of the subcommittee. Systematically collected clinical data were not available for review with many of the compounds in the group.

(5) For some organism/antimicrobial agent combinations, the absence or rare occurrence of resistant strains precludes defining any results categories other than "susceptible." For strains yielding results suggestive of a "nonsusceptible" category, organism identification and antimicrobial susceptibility test results should be confirmed. Subsequently, the isolates should be saved and submitted to a reference laboratory that will confirm results using a CLSI reference dilution method.

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2H-1. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole mm			Equivalent MIC Breakpoints (μg/mL)		Comments
			R	I	S	R	S	
PENICILLINS								(6) A streptococcal isolate that is susceptible to penicillin can be considered susceptible to ampicillin, amoxicillin, amoxicillin-clavulanic acid, ampicillin-sulbactam, cefaclor, cefazolin, cefdinir, cefepime, cefprozil, cefotaxime, ceftibuten (Group A streptococci only), ceftriaxone, cefuroxime, cefpodoxime, ceftizoxime, cephalothin, cephapirin, cephradine, imipenem, loracarbef, and meropenem for approved indications, and need not be tested against those agents.
A	Penicillin (beta-hemolytic group) or	10 units	-	-	≥ 24	-	≤ 0.12	See comment (5).
A	ampicillin (beta-hemolytic group)	10 μg	-	-	≥ 24	-	≤ 0.25	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)								See comment (6).
B	Cefepime or	30 μg	-	-	≥ 24	-	≤ 0.5	See comment (5).
B	cefotaxime or	30 μg	-	-	≥ 24	-	≤ 0.5	
B	ceftriaxone	30 μg	-	-	≥ 24	-	≤ 0.5	
GLYCOPEPTIDES								
B	Vancomycin	30 μg	-	-	≥ 17	-	≤ 1	See comment (5).
MACROLIDES								(7) Susceptibility and resistance to azithromycin, clarithromycin, and dirithromycin can be predicted by testing erythromycin. (8) Not routinely reported on isolates from the urinary tract.
A	Erythromycin	15 μg	≤ 15	16-20	≥ 21	≥ 1	≤ 0.25	(9) ***Rx:*** Recommendations for intrapartum prophylaxis for Group B streptococci are penicillin or ampicillin. While cefazolin is recommended for penicillin-allergic women at low risk for anaphylaxis, those at high risk for anaphylaxis may receive clindamycin or erythromycin. Group B streptococci are susceptible to ampicillin, penicillin, and cefazolin, but may be resistant to clindamycin and/or erythromycin. When a Group B streptococcus is isolated from a pregnant woman with severe penicillin allergy (high risk for anaphylaxis), clindamycin and erythromycin should be tested and reported.

Table 2H-1
Streptococcus spp.
Beta-hemolytic group
M2-Disk Diffusion

Table 2H-1 (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole mm			Equivalent MIC Breakpoints (μg/mL)		Comments
			R	I	S	R	S	
MACROLIDES (Continued)								
O	Azithromycin	15 μg	≤ 13	14-17	≥ 18	≥ 2	≤ 0.5	
O	Clarithromycin	15 μg	≤ 16	17-20	≥ 21	≥ 1	≤ 0.25	
O	Dirithromycin	15 μg	≤ 13	14-17	≥ 18	≥ 2	≤ 0.5	
TETRACYCLINES								
O	Tetracycline	30 μg	≤ 18	19-22	≥ 23	≥ 8	≤ 2	(10) Organisms that are susceptible to tetracycline are also considered susceptible to doxycycline and minocycline.
FLUOROQUINOLONES								
C	Levofloxacin	5 μg	≤ 13	14-16	≥ 17	≥ 8	≤ 2	
C	Ofloxacin	5 μg	≤ 12	13-15	≥ 16	≥ 8	≤ 2	
O	Gatifloxacin	5 μg	≤ 17	18-20	≥ 21	≥ 4	≤ 1	
O	Grepafloxacin	5 μg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 2	≤ 0.5	
O	Trovafloxacin	10 μg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 4	≤ 1	
PHENICOLS								
C	Chloramphenicol	30 μg	≤ 17	18-20	≥ 21	≥ 16	≤ 4	See comment (8).
LINCOSAMIDES								
A	Clindamycin	2 μg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 1	≤ 0.25	See comments (8) and (9). (11) Macrolide-resistant isolates of beta-hemolytic streptococci may have constitutive or inducible resistance to clindamycin (methylation of the 23S rRNA encoded by an *erm* gene also referred to as MLS_B [macrolide, lincosamide, and type B streptogramin] resistance) or may be resistant only to macrolides (efflux mechanism encoded by a *mef* gene). Inducible clindamycin resistance can be detected using a disk approximation test by placing a 2-μg clindamycin disk 12 mm from the edge of a 15-μg erythromycin disk as part of the normal disk diffusion procedure. Following incubation, organisms that do not show flattening of the clindamycin zone should be reported as clindamycin susceptible. Organisms that show flattening of the clindamycin zone adjacent to the erythromycin disk (referred to as a "D" zone) have inducible clindamycin resistance. Such isolates should be reported as "clindamycin resistant." A comment that "This isolate is presumed to be resistant based on detection of inducible clindamycin resistance. Clindamycin may still be effective in some patients." may be included.
STREPTOGRAMINS								
C	Quinupristin-dalfopristin	15 μg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 4	≤ 1	(12) Breakpoints are for reporting against *S. pyogenes* only.
OXAZOLIDINONES								
C	Linezolid	30 μg	-	-	≥ 21	-	≤ 2	See comment (5).

© *Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

This page is intentionally left blank.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 2H-2. Zone Diameter Interpretive Standards and Equivalent Minimal Inhibitory Concentration (MIC) Breakpoints for *Streptococcus* spp. Viridans group

Testing Conditions	
Medium:	Mueller-Hinton agar with 5% sheep blood
Inoculum:	Direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation:	35 ± 2 °C; 5% CO_2; 20 to 24 hours

Minimal QC Recommendations (See Table 3A for acceptable QC ranges.)

Streptococcus pneumoniae ATCC® 49619

General Comments

(1) Small-colony-forming beta-hemolytic strains with Group A, C, F, or G antigens (*S. anginosus*, previously termed "*S. milleri*") are considered part of the viridans group, and interpretive criteria for the viridans group should be used.

(2) **Measure the diameter of the zones of complete inhibition (as judged by the unaided eye), including the diameter of the disk. The zone margin should be considered the area showing no obvious, visible growth that can be detected with the unaided eye. Measure the zones from the upper surface of the agar illuminated with reflected light, with the cover removed. Ignore faint growth of tiny colonies that can be detected only with a magnifying lens at the edge of the zone of inhibited growth.**

(3) Viridans streptococci isolated from normally sterile body sites (eg, cerebrospinal fluid, blood, bone) should be tested for penicillin susceptibility using an MIC method.

(4) Interpretive criteria for **viridans** streptococci are proposed based on population distributions of various species, pharmacokinetics of the antimicrobial agents, previously published literature, and the clinical experience of certain members of the subcommittee. Systematically collected clinical data were not available for review with many of the compounds in the group.

(5) For some organism/antimicrobial agent combinations, the absence or rare occurrence of resistant strains precludes defining any results categories other than "susceptible." For strains yielding results suggestive of a "nonsusceptible" category, organism identification and antimicrobial susceptibility test results should be confirmed. Subsequently, the isolates should be saved and submitted to a reference laboratory that will confirm results using a CLSI reference dilution method.

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2H-2. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole mm			Equivalent MIC Breakpoints (μg/mL)		Comments
			R	I	S	R	S	
PENICILLINS								See comment (3). (6) A streptococcal isolate that is susceptible to penicillin can be considered susceptible to ampicillin, amoxicillin, amoxicillin-clavulanic acid, ampicillin-sulbactam, cefaclor, cefazolin, cefdinir, cefepime, cefprozil, cefotaxime, ceftibuten (Group A streptococci only), ceftriaxone, cefuroxime, cefpodoxime, ceftizoxime, cephalothin, cephapirin, cephradine, imipenem, loracarbef, and meropenem for approved indications, and need not be tested against those agents.
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)								See comment (6).
B	Cefepime	30 μg	≤ 21	22-23	≥ 24	≥ 4	≤ 1	
B	Cefotaxime	30 μg	≤ 25	26-27	≥ 28	≥ 4	≤ 1	
B	Ceftriaxone	30 μg	≤ 24	25-26	≥ 27	≥ 4	≤ 1	
GLYCOPEPTIDES								
B	Vancomycin	30 μg	-	-	≥ 17	-	≤ 1	See comment (5).
MACROLIDES								(7) Susceptibility and resistance to azithromycin, clarithromycin, and dirithromycin can be predicted by testing erythromycin. (8) Not routinely reported on isolates from the urinary tract.
C	Erythromycin	15 μg	≤ 15	16-20	≥ 21	≥ 1	≤ 0.25	
O	Azithromycin	15 μg	≤ 13	14-17	≥ 18	≥ 2	≤ 0.5	
O	Clarithromycin	15 μg	≤ 16	17-20	≥ 21	≥ 1	≤ 0.25	
O	Dirithromycin	15 μg	≤ 13	14-17	≥ 18	≥ 2	≤ 0.5	
TETRACYCLINES								
O	Tetracycline	30 μg	≤ 18	19-22	≥ 23	≥ 8	≤ 2	(9) Organisms that are susceptible to tetracycline are also considered susceptible to doxycycline and minocycline.
FLUOROQUINOLONES								
O	Levofloxacin	5 μg	≤ 13	14-16	≥ 17	≥ 8	≤ 2	
C	Ofloxacin	5 μg	≤ 12	13-15	≥ 16	≥ 8	≤ 2	
O	Gatifloxacin	5 μg	≤ 17	18-20	≥ 21	≥ 4	≤ 1	
O	Grepafloxacin	5 μg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 2	≤ 0.5	
O	Trovafloxacin	10 μg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 4	≤ 1	
PHENICOLS								
C	Chloramphenicol	30 μg	≤ 17	18-20	≥ 21	≥ 16	≤ 4	See comment (8).
LINCOSAMIDES								
C	Clindamycin	2 μg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 1	≤ 0.25	See comment (8).
STREPTOGRAMINS								
O	Quinupristin-dalfopristin	15 μg	≤ 15	16-18	≥ 19	≥ 4	≤ 1	
OXAZOLIDINONES								
C	Linezolid	30 μg	-	-	≥ 21	-	≤ 2	See comment (5).

Table 2H-2
Streptococcus spp.
Viridans group
M2-Disk Diffusion

© Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2I. Zone Diameter Interpretive Standards and Equivalent Minimal Inhibitory Concentration (MIC) Breakpoints for *Vibrio cholerae*

Testing Conditions

Medium: Mueller-Hinton agar
Inoculum: Growth method or direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation: 35 ± 2 °C; ambient air; 16 to 18 hours

Minimal QC Recommendations (See Table 3 for acceptable QC ranges.)

Escherichia coli ATCC® 25922

General Comments

(1) The results of disk diffusion tests for ampicillin, tetracycline, trimethoprim-sulfamethoxazole, and sulfonamides (ie, percentage of susceptible, intermediate, and resistant) correlate well with results determined by broth microdilution. Disk diffusion tests should not be used for erythromycin, because there is a poor correlation with MIC results.

(2) **Measure the diameter of the zones of complete inhibition (as judged by the unaided eye), including the diameter of the disk. Hold the petri plate a few inches above a black, nonreflecting background illuminated with reflected light. The zone margin should be considered the area showing no obvious, visible growth that can be detected with the unaided eye. Ignore faint growth of tiny colonies that can be detected only with a magnifying lens at the edge of the zone of inhibited growth. With trimethoprim and the sulfonamides, antagonists in the medium may allow some slight growth; therefore, disregard slight growth (20% or less of the lawn of growth) and measure the more obvious margin to determine the zone diameter.**

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole mm			Equivalent MIC Breakpoints (μg/mL)		Comments
			R	I	S	R	S	
PENICILLINS								
A	Ampicillin	10 μg	≤ 13	14-16	≥ 17	≥ 32	≤ 8	(3) Class representative for ampicillin and amoxicillin.
TETRACYCLINES								
C	Tetracycline	30 μg	≤ 14	15-18	≥ 19	≥ 16	≤ 4	(4) Tetracycline results can be used to predict the likely susceptibility of isolates to doxycycline; do not use disk test for doxycycline, as there is poor correlation with MIC results.
FOLATE PATHWAY INHIBITORS								
B	Trimethoprim-sulfamethoxazole	1.25/ 23.75 μg	≤ 10	11-15	≥ 16	≥ 8/152	≤ 2/38	
C	Sulfonamides	250 μg or 300 μg	≤ 12	13-16	≥ 17	≥ 350	≤ 100	(5) The sulfisoxazole disk can be used to represent any of the currently available sulfonamide preparations.
PHENICOLS								
C	Chloramphenicol	30 μg	≤ 12	13-17	≥ 18	≥ 32	≤ 8	(6) Use with caution as disk diffusion test may misclassify many organisms (higher minor error rate). (7) Not routinely reported on isolates from the urinary tract.

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

This page is intentionally left blank.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 2J. Zone Diameter Interpretive Standards and Equivalent Minimal Inhibitory Concentration (MIC) Breakpoints for *Neisseria meningitidis*

Testing Conditions

Medium: Mueller-Hinton agar with 5% sheep blood
Inoculum: Direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation: 35 ± 2 °C; 5% CO_2; 20 to 24 hours

Minimal QC Recommendations (See Tables 3 and 3A for acceptable QC ranges.)

Streptococcus pneumoniae ATCC® 49619 in 5% CO_2. *E. coli* ATCC® 25922 (incubated either in ambient air or 5% CO_2) should be used for ciprofloxacin, nalidixic acid, and minocycline.

General Comments

(1) Recommended precautions: Biosafety Level 2 (BSL2) practices are recommended for this organism. Whenever possible, procedures likely to generate aerosols should be performed within a biological safety cabinet.

(2) **Measure the diameter of the zones of complete inhibition (as judged by the unaided eye), including the diameter of the disk. The zone margin should be considered the area showing no obvious, visible growth that can be detected with the unaided eye. Measure the zones from the upper surface of the agar illuminated with reflected light, with the cover removed. Ignore faint growth of tiny colonies that can be detected only with a magnifying lens at the edge of the zone of inhibited growth. With trimethoprim and the sulfonamides, antagonists in the medium may allow some slight growth; therefore, disregard slight growth (20% or less of the lawn of growth) and measure the more obvious margin to determine the zone diameter.**

(3) For some organism/antimicrobial agent combinations, the absence or rare occurrence of resistant strains precludes defining any results categories other than "susceptible." For strains yielding results suggestive of a "nonsusceptible" category, organism identification and antimicrobial susceptibility test results should be confirmed. Subsequently, the isolates should be saved and submitted to a reference laboratory that will confirm results using a CLSI reference dilution method.

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole mm			Equivalent MIC Breakpoints (µg/mL)		Comments
			R	I	S	R	S	
PENICILLINS								
C	Penicillin	10 units	-	-	-	≥ 0.5	≤ 0.06	(4) Disk diffusion tests with ampicillin and penicillin for *Neisseria meningitidis* are unreliable. Minimal inhibitory concentration (MIC) tests should be used for these organisms.
C	Ampicillin	10 µg	-	-	-	≥ 2	≤ 0.12	
CEPHEMS								
C	Cefotaxime	30 µg	-	-	≥ 34	-	≤ 0.12	See comment (3).
C	Ceftriaxone	30 µg	-	-	≥ 34	-	≤ 0.12	See comment (3).
CARBAPENEMS								
C	Meropenem	10 µg	-	-	≥ 30	-	≤ 0.25	See comment (3).
MACROLIDES								
C	Azithromycin	15 µg	-	-	≥ 20	-	≤ 2	See comment (3). (5) May be appropriate only for prophylaxis of meningococcal case contacts. These breakpoints do not apply to therapy of patients with invasive meningococcal disease.
TETRACYCLINES								
C	Minocycline	30 µg	-	-	≥ 26	-	≤ 2	See comments (3) and (5).
FLUOROQUINOLONES								
C	Ciprofloxacin	5 µg	≤ 32	33-34	≥ 35	≥ 0.12	≤ 0.03	See comment (5).

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2J. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	Disk Content	Zone Diameter, Nearest Whole mm			Equivalent MIC Breakpoints (μg/mL)		Comments
			R	I	S	R	S	
QUINOLONES								
C	Nalidixic acid	30 μg	≤ 25	-	≥ 26	≥ 8	≤ 4	(6) For surveillance purposes only, a nalidixic acid zone ≤ 25 mm may detect diminished fluoroquinolone susceptibility.
FOLATE PATHWAY INHIBITORS								
C	Trimethoprim-sulfamethoxazole	1.25/23.75 μg	≤ 25	26-29	≥ 30	≥ 0.5/9.5	≤0.12/2.3	(7) This is the preferred disk for detection of sulfonamide resistance. Trimethoprim-sulfamethoxazole testing predicts susceptibility and resistance to trimethoprim-sulfamethoxazole and sulfonamides. Sulfonamides may be appropriate only for prophylaxis of meningococcal case contacts.
PHENICOLS								
C	Chloramphenicol	30 μg	≤ 19	20-25	≥ 26	≥ 8	≤ 2	(8) Not routinely reported on isolates from the urinary tract.
ANSAMYCINS								
C	Rifampin	5 μg	≤ 19	20-24	≥ 25	≥ 2	≤ 0.5	See comment (5).

Table 2J
Neisseria meningitidis
M2-Disk Diffusion

© Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 3. Acceptable Limits for Quality Control Strains Used to Monitor Accuracy of Disk Diffusion Testing of Nonfastidious Organisms (Using Mueller-Hinton Medium Without Blood or Other Supplements)

Antimicrobial Agent	Disk Content	*Escherichia coli* ATCC® 25922[a]	*Staphylococcus aureus* ATCC® 25923	*Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853	*Escherichia coli* ATCC® 35218[b]
Amikacin	30 μg	19-26	20-26	18-26	-
Amoxicillin-clavulanic acid	20/10 μg	18-24	28-36	-	17-22
Ampicillin	10 μg	16-22	27-35	-	6
Ampicillin-sulbactam	10/10 μg	19-24	29-37	-	13-19
Azithromycin	15 μg	-	21-26	-	-
Azlocillin	75 μg	-	-	24-30	-
Aztreonam	30 μg	28-36	-	23-29	-
Carbenicillin	100 μg	23-29	-	18-24	-
Cefaclor	30 μg	23-27	27-31	-	-
Cefamandole	30 μg	26-32	26-34	-	-
Cefazolin	30 μg	21-27	29-35	-	-
Cefdinir	5 μg	24-28	25-32	-	-
Cefditoren	5 μg	22-28	20-28	-	-
Cefepime	30 μg	31-37	23-29	24-30	-
Cefetamet	10 μg	24-29	-	-	-
Cefixime	5 μg	23-27	-	-	-
Cefmetazole	30 μg	26-32	25-34	-	-
Cefonicid	30 μg	25-29	22-28	-	-
Cefoperazone	75 μg	28-34	24-33	23-29	-
Cefotaxime	30 μg	29-35	25-31	18-22	-
Cefotetan	30 μg	28-34	17-23	-	-
Cefoxitin	30 μg	23-29	23-29	-	-
Cefpodoxime	10 μg	23-28	19-25	-	-
Cefprozil	30 μg	21-27	27-33	-	-
Ceftaroline	30 μg	26-34	26-35	-	-
Ceftazidime	30 μg	25-32	16-20	22-29	-
Ceftibuten	30 μg	27-35	-	-	-
Ceftizoxime	30 μg	30-36	27-35	12-17	-
Ceftobiprole	30 μg	30-36	26-34	24-30	-
Ceftriaxone	30 μg	29-35	22-28	17-23	-
Cefuroxime	30 μg	20-26	27-35	-	-
Cephalothin	30 μg	15-21	29-37	-	-
Chloramphenicol	30 μg	21-27	19-26	-	-
Cinoxacin	100 μg	26-32	-	-	-
Ciprofloxacin	5 μg	30-40	22-30	25-33	-
Clarithromycin	15 μg	-	26-32	-	-
Clinafloxacin	5 μg	31-40	28-37	27-35	-
Clindamycin[c]	2 μg	-	24-30	-	-
Colistin	10 μg	11-17	-	11-17	-
Daptomycin[d]	30 μg	-	18-23	-	-
Dirithromycin	15 μg	-	18-26	-	-
Doripenem	10 μg	28-35	33-42	29-35	-
Doxycycline	30 μg	18-24	23-29	-	-
Enoxacin	10 μg	28-36	22-28	22-28	-
Ertapenem	10 μg	29-36	24-31	13-21	-
Erythromycin[c]	15 μg	-	22-30	-	-
Faropenem	5 μg	20-26	27-34	-	-
Fleroxacin	5 μg	28-34	21-27	12-20	-
Fosfomycin[e]	200 μg	22-30	25-33	-	-
Garenoxacin	5 μg	28-35	30-36	19-25	-
Gatifloxacin	5 μg	30-37	27-33	20-28	-
Gemifloxacin	5 μg	29-36	27-33	19-25	-
Gentamicin[f]	10 μg	19-26	19-27	16-21	-
Grepafloxacin	5 μg	28-36	26-31	20-27	-
Iclaprim	5 μg	14-22	25-33	-	-
Imipenem	10 μg	26-32	-	20-28	-
Kanamycin	30 μg	17-25	19-26	-	-
Levofloxacin	5 μg	29-37	25-30	19-26	-
Linezolid	30 μg	-	25-32	-	-
Lomefloxacin	10 μg	27-33	23-29	22-28	-

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 3. (Continued)

Antimicrobial Agent	Disk Content	*Escherichia coli* ATCC® 25922[a]	*Staphylococcus aureus* ATCC® 25923	*Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853	*Escherichia coli* ATCC® 35218[b]
Loracarbef	30 μg	23-29	23-31	-	-
Mecillinam	10 μg	24-30	-	-	-
Meropenem	10 μg	28-34	29-37	27-33	-
Methicillin	5 μg	-	17-22	-	-
Mezlocillin	75 μg	23-29	-	19-25	-
Minocycline	30 μg	19-25	25-30	-	-
Moxalactam	30 μg	28-35	18-24	17-25	-
Moxifloxacin	5 μg	28-35	28-35	17-25	-
Nafcillin	1 μg	-	16-22	-	-
Nalidixic acid	30 μg	22-28	-	-	-
Netilmicin	30 μg	22-30	22-31	17-23	-
Nitrofurantoin	300 μg	20-25	18-22	-	-
Norfloxacin	10 μg	28-35	17-28	22-29	-
Ofloxacin	5 μg	29-33	24-28	17-21	-
Oxacillin	1 μg	-	18-24	-	-
Penicillin	10 units	-	26-37	-	-
Piperacillin	100 μg	24-30	-	25-33	12-18
Piperacillin-tazobactam	100/10 μg	24-30	27-36	25-33	24-30
Polymyxin B	300 units	13-19	-	14-18	-
Quinupristin-dalfopristin	15 μg	-	21-28	-	-
Rifampin	5 μg	8-10	26-34	-	-
Sparfloxacin	5 μg	30-38	27-33	21-29	-
Streptomycin[f]	10 μg	12-20	14-22	-	-
Sulfisoxazole[g]	250 μg or 300 μg	15-23	24-34	-	-
Teicoplanin	30 μg	-	15-21	-	-
Telavancin	30 μg	-	16-20	-	-
Telithromycin	15 μg	-	24-30	-	-
Tetracycline	30 μg	18-25	24-30	-	-
Ticarcillin	75 μg	24-30	-	21-27	6
Ticarcillin-clavulanic acid	75/10 μg	24-30	29-37	20-28	21-25
Tigecycline	15 μg	20-27	20-25	9-13	-
Tobramycin	10 μg	18-26	19-29	19-25	-
Trimethoprim[g]	5 μg	21-28	19-26	-	-
Trimethoprim-sulfamethoxazole[g]	1.25/23.75 μg	23-29	24-32	-	-
Trospectomycin	30 μg	10-16	15-20	-	-
Trovafloxacin	10 μg	29-36	29-35	21-27	-
Vancomycin	30 μg	-	17-21	-	-

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

Footnotes

a. ATCC is a registered trademark of the American Type Culture Collection.
b. Careful organism maintenance is required; refer to M2-A9, Section 15.3.
c. When disk approximation tests are performed with erythromycin and clindamycin, *S. aureus* ATCC® BAA-977 (containing inducible *ermA*-mediated resistance) and *S. aureus* ATCC® BAA-976 (containing *msr*A-mediated macrolide-only efflux) are recommended for quality assessment purposes (eg, training, competency assessment, or test evaluation). *S. aureus* ATCC® BAA-977 should demonstrate inducible clindamycin resistance (ie, a positive D-zone test), while *S. aureus* ATCC® BAA-976 should not demonstrate inducible clindamycin resistance. *S. aureus* ATCC® 25923 should be used for routine quality control (eg, weekly or daily) of erythromycin and clindamycin disks using standard Mueller-Hinton agar.
d. Some lots of Mueller-Hinton agar are deficient in calcium and give small zones.
e. The 200-μg fosfomycin disk contains 50 μg of glucose-6-phosphate.
f. For control limits of gentamicin 120-μg and streptomycin 300-μg disks, use *Enterococcus faecalis* ATCC® 29212 (gentamicin: 16 to 23 mm; streptomycin: 14 to 20 mm).
g. These agents can be affected by excess levels of thymidine and thymine. See M2-A9, Section 7.1.4 for guidance should a problem with quality control occur.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 3A. Acceptable Limits for Quality Control Strains Used to Monitor Accuracy of Disk Diffusion Testing of Fastidious Organisms

Antimicrobial Agent	Disk Content	*Haemophilus influenzae* ATCC® 49247[a]	*Haemophilus influenzae* ATCC® 49766	*Neisseria gonorrhoeae* ATCC® 49226	*Streptococcus pneumoniae* ATCC® 49619[b]
Amoxicillin-clavulanic acid[c]	20/10 μg	15-23	-	-	-
Ampicillin	10 μg	13-21	-	-	30-36
Ampicillin-sulbactam	10/10 μg	14-22	-	-	-
Azithromycin	15 μg	13-21	-	-	19-25
Aztreonam	30 μg	30-38	-	-	-
Cefaclor	30 μg	-	25-31	-	24-32
Cefdinir	5 μg	-	24-31	40-49	26-31
Cefditoren	5 μg	25-34	-	-	27-35
Cefepime	30 μg	25-31	-	37-46	28-35
Cefetamet	10 μg	23-28	-	35-43	-
Cefixime	5 μg	25-33	-	37-45	16-23
Cefmetazole	30 μg	16-21	-	31-36	-
Cefonicid	30 μg	-	30-38	-	-
Cefotaxime	30 μg	31-39	-	38-48	31-39
Cefotetan	30 μg	-	-	30-36	-
Cefoxitin	30 μg	-	-	33-41	-
Cefpodoxime	10 μg	25-31	-	35-43	28-34
Cefprozil	30 μg	-	20-27	-	25-32
Ceftaroline	30 μg	29-39	-	-	31-41
Ceftazidime	30 μg	27-35	-	35-43	-
Ceftibuten	30 μg	29-36	-	-	-
Ceftizoxime	30 μg	29-39	-	42-51	28-34
Ceftobiprole[d]	30 μg	28-36	30-38	-	33-39
Ceftriaxone	30 μg	31-39	-	39-51	30-35
Cefuroxime	30 μg	-	28-36	33-41	-
Cephalothin	30 μg	-	-	-	26-32
Chloramphenicol	30 μg	31-40	-	-	23-27
Ciprofloxacin	5 μg	34-42	-	48-58	-
Clarithromycin	15 μg	11-17	-	-	25-31
Clinafloxacin	5 μg	34-43	-	-	27-34
Clindamycin	2 μg	-	-	-	19-25
Daptomycin[e]	30 μg	-	-	-	19-26
Dirithromycin	15 μg	-	-	-	18-25
Doripenem	10 μg	21-31	-	-	30-38
Enoxacin	10 μg	-	-	43-51	-
Ertapenem	10 μg	20-28	27-33	-	28-35
Erythromycin	15 μg	-	-	-	25-30
Faropenem	5 μg	15-22	-	-	27-35
Fleroxacin	5 μg	30-38	-	43-51	-
Garenoxacin	5 μg	33-41	-	-	26-33
Gatifloxacin	5 μg	33-41	-	45-56	24-31
Gemifloxacin	5 μg	30-37	-	-	28-34
Grepafloxacin	5 μg	32-39	-	44-52	21-28
Iclaprim	5 μg	24-33	-	-	21-29
Imipenem	10 μg	21-29	-	-	-
Levofloxacin	5 μg	32-40	-	-	20-25
Linezolid	30 μg	-	-	-	25-34
Lomefloxacin	10 μg	33-41	-	45-54	-
Loracarbef	30 μg	-	26-32	-	22-28
Meropenem	10 μg	20-28	-	-	28-35
Moxifloxacin	5 μg	31-39	-	-	25-31
Nitrofurantoin	300 μg	-	-	-	23-29
Norfloxacin	10 μg	-	-	-	15-21
Ofloxacin	5 μg	31-40	-	43-51	16-21
Oxacillin	1 μg	-	-	-	≤ 12[f]
Penicillin	10 units	-	-	26-34	24-30
Piperacillin-tazobactam	100/10 μg	33-38	-	-	-
Quinupristin-dalfopristin	15 μg	15-21	-	-	19-24
Rifampin	5 μg	22-30	-	-	25-30

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 3A. (Continued)

Antimicrobial Agent	Disk Content	*Haemophilus influenzae* ATCC® 49247[a]	*Haemophilus influenzae* ATCC® 49766	*Neisseria gonorrhoeae* ATCC® 49226	*Streptococcus pneumoniae* ATCC® 49619[b]
Sparfloxacin	5 μg	32-40	-	43-51	21-27
Spectinomycin	100 μg	-	-	23-29	-
Telavancin	30 μg	-	-	-	17-24
Telithromycin	15 μg	17-23	-	-	27-33
Tetracycline	30 μg	14-22	-	30-42	27-31
Tigecycline	15 μg	23-31	-	30-40	23-29
Trimethoprim-sulfamethoxazole	1.25/23.75 μg	24-32	-	-	20-28
Trospectomycin	30 μg	22-29	-	28-35	-
Trovafloxacin	10 μg	32-39	-	42-55	25-32
Vancomycin	30 μg	-	-	-	20-27

Disk Diffusion Testing Conditions for Clinical Isolates and Performance of Quality Control

Organism	*Haemophilus influenzae*	*Neisseria gonorrhoeae*	Streptococci and *Neisseria meningitidis*
Medium	*Haemophilus* Test Medium	GC agar base and 1% defined growth supplement. The use of a cysteine-free growth supplement is not required for disk diffusion testing.	MHA supplemented with 5% defibrinated sheep blood
Inoculum	Direct colony suspension	Direct colony suspension	Direct colony suspension
Incubation Characteristics	5% CO_2; 16 to 18 hours; 35 °C	5% CO_2; 20 to 24 hours; 35 °C	5% CO_2; 20 to 24 hours; 35 °C

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

Footnotes

a. ATCC is a registered trademark of the American Type Culture Collection.

b. Despite the lack of reliable disk diffusion interpretive criteria for *S. pneumoniae* with certain β-lactams, *Streptococcus pneumoniae* ATCC® 49619 is the strain designated for quality control of all disk diffusion tests with all *Streptococcus* spp.

c. When testing *Haemophilus* on HTM, the acceptable limits for QC strain *E. coli* ATCC® 35218 are 17 to 22 mm for amoxicillin-clavulanic acid when incubated in ambient air.

d. Either *H. influenzae* ATCC® 49247 or 49766 may be used for routine quality control testing.

e. Some lots of Mueller-Hinton agar are deficient in calcium and give small zones.

f. Deterioration in oxacillin disk content is best assessed with QC organism *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923, with an acceptable zone diameter of 18 to 24 mm.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 3B. Reference Guide to Quality Control Testing Frequency

This table summarizes the suggested frequency of testing CLSI-recommended ATCC®[a] quality control strains to be performed by the user of antimicrobial susceptibility tests (AST). It applies only to antimicrobial agents for which 20 or 30 consecutive test days of quality control testing produced satisfactory results.

	Number of Days of Consecutive QC Testing Required[b]			
Test Modification	**1**	**5**	**20 or 30**	**Comments**
Disks				
Use new shipment or lot number	X			
Use new manufacturer	X			
Media (prepared agar plates)				
Use new shipment or lot number	X			
Use new manufacturer		X		
Inoculum Preparation				
Convert inoculum preparation/ standardization to use of a device that has its own QC protocol.		X		Example: Convert from visual adjustment of turbidity to use of a photometric device for which a quality control procedure is provided.
Convert inoculum preparation/ standardization to a method that is dependent on user technique.			X	Example: Convert from visual adjustment of turbidity to another method that is not based on a photometric device.
Measuring Zones				
Change method of measuring zones.			X	Example: Convert from manual zone measurements to automated zone reader. In addition, perform in-house validation studies.
Instrument/Software (eg, automated zone reader)				
Software update that affects AST results		X		Monitoring all drugs, not just those implicated in software modification
Repair of instrument that affects AST results	X			Depending on extent of repair (eg, critical component such as the photographic device), additional testing may be appropriate (eg, five days).

NOTE 1: Addition of any NEW antimicrobial agent requires 20 or 30 consecutive days of satisfactory testing (see M2-A9, Section 15.5) prior to use of this guide.

NOTE 2: QC can be performed prior to or concurrent with testing patient isolates. Patient results can be reported for that day if quality control results are within the acceptable limits.

NOTE 3: Manufacturers of commercial or in-house prepared tests should follow their own internal procedures and applicable regulations.

NOTE 4: For troubleshooting out-of-range results, refer to M2-A9, Section 15.6.

NOTE 5: Broth, saline, and/or water used to prepare an inoculum does not require routine quality control.

Footnotes

a. ATCC is a registered trademark of the American Type Culture Collection.
b. Does not eliminate the need for routine weekly or daily QC testing.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

This page is intentionally left blank.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 3C. Disk Diffusion QC Troubleshooting Guide

This table provides guidance for troubleshooting and corrective action for out-of-range quality control, primarily using antimicrobial susceptibility tests with Mueller-Hinton agar. Refer to M2-A9, Disk Diffusion, Section 15, Quality Control Procedures and Appendix A, Quality Control Protocol Flow Charts for additional information. Out-of-range quality control tests should first be repeated. If the issue is unresolved, this troubleshooting guide provides additional suggestions for troubleshooting out-of-range quality control results. In addition, if unresolved, manufacturers should be notified of potential product problems.

General Comments

(1) QC organism maintenance: avoid repeated subcultures. Retrieve new QC strain from stock. If using lyophilized strains, follow the maintenance recommendations of the manufacturer. Store *E. coli* ATCC®[a] 35218 and *K. pneumoniae* ATCC® 700603 stock cultures at -60 °C or below and prepare working stock cultures weekly.

Antimicrobial Agent	QC Strain	Observation	Probable Cause	Comments/Action
Aminoglycosides	Any	Zone too small	pH of media too low	Acceptable pH range = 7.2-7.4 Avoid CO_2 incubation, which lowers pH.
Aminoglycosides	Any	Zone too large	pH of media too high	Acceptable pH range = 7.2-7.4
Aminoglycosides	*P. aeruginosa* ATCC® 27853	Zone too small	Ca++ and/or Mg ++ content too high	Use alternative lot of media.
Aminoglycosides	*P. aeruginosa* ATCC® 27853	Zone too large	Ca++ and/or Mg ++ content too low	Use alternative lot of media.
Amoxicillin-clavulanic acid	*E. coli* ATCC® 35218	Zone too small	Clavulanic acid is labile. Disk has lost potency.	Use alternative lot of disks. Check storage conditions and package integrity.
Ampicillin	*E. coli* ATCC® 35218	Zone too large (should be no zone — resistant)	Spontaneous loss of the plasmid encoding the beta-lactamase	See comment (1) on QC organism maintenance.
Beta-lactam group	Any	Zone initially acceptable but decreases and possibly out-of-range over time	Disk has lost potency	Use alternative lot of disks. Check storage conditions and package integrity. Imipenem, clavulanic acid, and cefaclor are especially labile.
Aztreonam Cefotaxime Cefpodoxime Ceftazidime Ceftriaxone	*K. pneumoniae* ATCC® 700603	Zone too large	Spontaneous loss of the plasmid encoding the beta-lactamase	See comment (1) on QC organism maintenance.
Cefotaxime/clavulanic acid Ceftazidime/clavulanic acid	*K. pneumoniae* ATCC® 700603	Negative ESBL confirmatory test	Spontaneous loss of the plasmid encoding the beta-lactamase	See comment (1) on QC organism maintenance.
Penicillins	Any	Zone too large	pH of media too low	Acceptable pH range = 7.2-7.4 Avoid CO_2 incubation, which lowers pH.
Penicillins	Any	Zone too small	pH of media too high	Acceptable pH range = 7.2-7.4
Carbenicillin	*P. aeruginosa* ATCC® 27853	Zone too small	QC strain develops resistance after repeated subculture	See comment (1) on QC organism maintenance.
Ticarcillin-clavulanic acid	*E. coli* ATCC® 35218	Zone too small	Clavulanic acid is labile. Disk has lost potency.	Use alternative lot of disks. Check storage conditions and package integrity.
Clindamycin	*S. aureus* ATCC® 25923	Zone too small	pH of media too low	Acceptable pH range = 7.2-7.4 Avoid CO_2 incubation, which lowers pH.
Clindamycin	*S. aureus* ATCC® 25923	Zone too large	pH of media too high	Acceptable pH range = 7.2-7.4
Daptomycin	*S. aureus* ATCC® 25923	Zone too small	Ca++ content of media too low	Use an alternative lot of media.
Macrolides	*S. aureus* ATCC® 25923	Zone too small	pH of media too low	Acceptable pH range = 7.2-7.4 Avoid CO_2 incubation, which lowers pH.
Macrolides	*S. aureus* ATCC® 25923	Zone too large	pH of media too high	Acceptable pH range = 7.2-7.4

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 3C. (Continued)

Antimicrobial Agent	QC Strain	Observation	Probable Cause	Comments/Action
Quinolones	Any	Zone too small	pH of media too low	Acceptable pH range = 7.2-7.4 Avoid CO_2 incubation, which lowers pH.
Quinolones	Any	Zone too large	pH of media too high	Acceptable pH range = 7.2-7.4
Tetracyclines	Any	Zone too large	pH of media too low	Acceptable pH range = 7.2-7.4 Avoid CO_2 incubation, which lowers pH.
Tetracyclines	Any	Zone too small	pH of media too high	Acceptable pH range = 7.2-7.4
Tetracyclines	Any	Zone too small	Ca++ and/or Mg ++ content too high	Use alternative lot of media.
Tetracyclines	Any	Zone too large	Ca++ and/or Mg ++ content too low	Use alternative lot of media.
Sulfonamides Trimethoprim Trimethoprim-sulfamethoxazole	*E. faecalis* ATCC® 29212	Zone ≤ 20 mm	Media too high in thymidine content	Use alternative lot of media.
Various	Any	Many zones too large	Inoculum too light Error in inoculum preparation Media depth too thin MHA nutritionally unacceptable	Repeat using McFarland 0.5 turbidity standard or standardizing device. Check expiration date and proper storage if using barium sulfate or latex standards. Use agar with depth approximately 4 mm. Recheck alternate lots of MHA.
Various	Any	Many zones too small	Inoculum too heavy Error in inoculum preparation Media depth too thick MHA nutritionally unacceptable	Repeat using McFarland 0.5 turbidity standard or standardizing device. Check expiration date and proper storage if using barium sulfate or latex standards. Use agar with depth approximately 4 mm. Recheck alternate lots of MHA.
Various	Any	One or more zones too small or too large	Measurement error Transcription error Random defective disk Disk not pressed firmly against agar	Recheck readings for measurement or transcription errors. Retest. If retest results out-of-range and no errors detected, initiate corrective action.
Various	*S. pneumoniae* ATCC® 49619	Zones too large. Lawn of growth scanty.	Inoculum source plate too old and contains too many nonviable cells. Plate used to prepare inoculum should be 18-20 hrs.	Subculture QC strain and repeat QC test or retrieve new QC strain from stock.
Various	Any	One QC strain is out-of-range, but other QC organism(s) are in range with the same antibiotic	One QC organism may be a better indicator of a QC problem.	Retest this strain to confirm reproducibility of acceptable results. Evaluate with alternative strains with known MICs. Initiate corrective action with problem QC strain/antimicrobial agent(s).
Various	Any	Two QC strains out-of-range with the same antimicrobial agent	Indicative of a problem with the disk	Use alternative lot of disks. Check storage conditions and package integrity.
Various	Any	Zones overlap	Too many disks per plate	Place no more than 12 disks on a 150-mm plate and 5 disks on a 100-mm plate; for some fastidious bacteria that produce large zones, use fewer.

Footnote

a. ATCC is a registered trademark of the American Type Culture Collection.

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 1. Suggested Groupings of Antimicrobial Agents With FDA Clinical Indications That Should Be Considered for Routine Testing and Reporting on Nonfastidious Organisms by Clinical Microbiology Laboratories in the United States

	Enterobacteriaceae[g]	***Pseudomonas aeruginosa***	***Staphylococcus* spp.**	***Enterococcus* spp.**[m]
GROUP A PRIMARY TEST AND REPORT	Ampicillin [g]	Ceftazidime	**Azithromycin[d] or clarithromycin[d] or erythromycin[d]**	Ampicillin
			Clindamycin[d]	
			Oxacillin[k]	
	Cefazolin[a] Cephalothin[a]	Gentamicin **Tobramycin**	Penicillin[k]	Penicillin[n]
	Gentamicin **Tobramycin**	Piperacillin	**Trimethoprim-sulfamethoxazole**	
GROUP B[e] PRIMARY TEST REPORT SELECTIVELY	Amikacin	Amikacin		Daptomycin
				Linezolid
		Aztreonam		Quinupristin-dalfopristin[o]
	Amoxicillin-clavulanic acid Ampicillin-sulbactam Piperacillin-tazobactam Ticarcillin-clavulanic acid	Cefepime		Vancomycin
	Cefuroxime		Daptomycin	
		Ciprofloxacin Levofloxacin	Linezolid	
			Telithromycin[d]	
	Cefepime	Imipenem Meropenem	**Doxycycline** **Tetracycline[b]**	
	Cefoxitin	Piperacillin-tazobactam **Ticarcillin**	Vancomycin	
			Rifampin[c]	
	Cefotaxime[g,h,i] or ceftriaxone[g,h,i]			
	Ciprofloxacin[g] Levofloxacin[g]			
	Ertapenem Imipenem Meropenem			
	Piperacillin			
	Trimethoprim-sulfamethoxazole[g]			
GROUP C[f] SUPPLEMENTAL REPORT SELECTIVELY	Aztreonam Ceftazidime (Both are helpful indicators of extended-spectrum β-lactamases.)[i]		Chloramphenicol[d]	Gentamicin (high-level resistance screen only)
			Ciprofloxacin or levofloxacin or ofloxacin Moxifloxacin	Streptomycin (high-level resistance screen only)
	Chloramphenicol[d,g]		Gentamicin	
	Tetracycline[b]		Quinupristin-dalfopristin[l]	
GROUP U SUPPLEMENTAL FOR URINE ONLY			Lomefloxacin Norfloxacin	Ciprofloxacin Levofloxacin Norfloxacin
	Lomefloxacin or ofloxacin Norfloxacin	Lomefloxacin or ofloxacin Norfloxacin		Nitrofurantoin
	Nitrofurantoin		Nitrofurantoin	
	Sulfisoxazole		Sulfisoxazole	
	Trimethoprim		Trimethoprim	
				Tetracycline[b]

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 1. (Continued)

	Acinetobacter spp.[j]	*Burkholderia cepacia*[j]	*Stenotrophomonas maltophilia*[j]	Other Non-Enterobacteriaceae[j]
GROUP A PRIMARY TEST AND REPORT	**Ampicillin-sulbactam**	Trimethoprim-sulfamethoxazole	Trimethoprim-sulfamethoxazole	**Ceftazidime**
	Ceftazidime			
	Ciprofloxacin Levofloxacin			
	Imipenem Meropenem			**Gentamicin** **Tobramycin**
	Gentamicin Tobramycin			**Piperacillin**
GROUP B[e] PRIMARY TEST REPORT SELECTIVELY	Amikacin	Ceftazidime	Ceftazidime	**Amikacin**
		Chloramphenicol[d]	Chloramphenicol[d]	**Aztreonam**
		Levofloxacin	Levofloxacin	**Cefepime**
	Piperacillin-tazobactam Ticarcillin-clavulanate	Meropenem	Minocycline	**Ciprofloxacin Levofloxacin**
		Minocycline	Ticarcillin-clavulanate	**Imipenem Meropenem**
		Ticarcillin-clavulanate		
	Cefepime			**Piperacillin-tazobactam Ticarcillin-clavulanate**
	Cefotaxime Ceftriaxone			
	Doxycycline Minocycline Tetracycline			**Trimethoprim-sulfamethoxazole**
	Piperacillin			
	Trimethoprim-sulfamethoxazole			
GROUP C[f] SUPPLEMENTAL REPORT SELECTIVELY	Colistin Polymyxin B			**Cefotaxime Ceftriaxone**
				Chloramphenicol[d]
GROUP U SUPPLEMENTAL FOR URINE ONLY				**Lomefloxacin or ofloxacin** **Norfloxacin**
				Sulfisoxazole
				Tetracycline[b]

Table 1
Suggested
Nonfastidious Groupings
M7-MIC

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 1. (Continued)

"Warning": The following antimicrobial agents should not be routinely reported for bacteria isolated from CSF, which are included in this document. These antimicrobial agents are not the drugs of choice and may not be effective for treating CSF infections caused by these organisms (ie, the bacteria included in Tables 2A to 2J):

agents administered by oral route only
1st- and 2nd-generation cephalosporins (except cefuroxime sodium)
clindamycin
macrolides
tetracyclines
fluoroquinolones

NOTE 1: Selection of the most appropriate antimicrobial agents to test and to report is a decision made best by each clinical laboratory in consultation with the infectious disease practitioners and the pharmacy, as well as the pharmacy and therapeutics and infection control committees of the medical staff. The lists for each organism group comprise agents of proven efficacy that show acceptable *in vitro* test performance. Considerations in the assignment of agents to Groups A, B, C, and U include clinical efficacy, prevalence of resistance, minimizing emergence of resistance, cost, FDA clinical indications for usage and current consensus recommendations for first-choice and alternative drugs, in addition to the specific comments in footnotes "e" and "f." Tests of selected agents may be useful for infection control purposes.

NOTE 2: The listing of drugs together in a single box designates clusters of agents for which interpretive results (susceptible, intermediate, or resistant) and clinical efficacy are similar. Therefore, only one of the agents within each box need be selected for testing. Within each box, an "or" between agents designates those agents for which cross-resistance and cross-susceptibility are nearly complete. This means combined major and very major errors are fewer than 3% and minor errors are fewer than 10%, based on a large population of bacteria tested. In addition, to qualify for an "or," at least 100 strains with resistance to the agents in question must be tested and a result of "resistant" must be obtained with all agents for at least 95% of the strains. "Or" is also used for comparable antimicrobial agents when tested against organisms for which "susceptible-only" interpretive criteria are provided (eg, cefotaxime or ceftriaxone with *Haemophilus influenzae*). Thus, results from one agent connected by an "or" could be used to predict results for the other agent (eg, a non-ESBL-producing isolate of Enterobacteriaceae susceptible to cefotaxime can be considered susceptible to ceftriaxone). The agents reported should be the agents tested unless reporting based on testing another agent provides a more accurate result (eg, susceptibility of staphylococci to oxacillin based on cefoxitin testing), and they usually should match those included in the hospital formulary. Unexpected resistance should be reported (eg, resistance of Enterobacteriaceae to carbapenems).

NOTE 3: Information in boldface type is considered tentative for one year.

Footnotes

General Comments

a. Cephalothin can be used to represent cephalothin, cephapirin, cephradine, cephalexin, cefaclor, and cefadroxil. Cefazolin, cefuroxime, cefpodoxime, cefprozil, and loracarbef (urinary isolates only) may be tested individually, because some isolates may be susceptible to these agents when resistant to cephalothin.

b. Organisms that are susceptible to tetracycline are also considered susceptible to doxycycline and minocycline. However, some organisms that are intermediate or resistant to tetracycline may be susceptible to doxycycline or minocycline or both.

c. ***Rx:*** Rifampin should not be used alone for antimicrobial therapy.

d. Not routinely reported on organisms isolated from the urinary tract.

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 1. (Continued)

e. Group B represents agents that may warrant primary testing but which should be reported only selectively, such as when the organism is resistant to agents of the same family in Group A. Other indications for reporting the result might include selected specimen sources (eg, selected third-generation cephalosporins for isolates of enteric bacteria from CSF or trimethoprim-sulfamethoxazole for urinary tract isolates); stated allergy or intolerance, or failure to respond to an agent in Group A; polymicrobial infections; infections involving multiple sites with different microorganisms; or reports to infection control for epidemiologic aid.

f. Group C represents alternative or supplemental antimicrobial agents that may require testing in those institutions that harbor endemic or epidemic strains resistant to one or more of the primary drugs (especially in the same family, eg, β-lactams), or for treatment of unusual organisms (eg, chloramphenicol for **extraintestinal isolates of *Salmonella* spp.**), or reporting to infection control as an epidemiologic aid.

Enterobacteriaceae

g. When fecal isolates of *Salmonella* and *Shigella* spp. are tested, only ampicillin, a fluoroquinolone, and trimethoprim/sulfamethoxazole should be reported routinely. In addition, chloramphenicol and a third-generation cephalosporin should be tested and reported for extraintestinal isolates of *Salmonella* spp.

h. Cefotaxime and ceftriaxone should be tested and reported on isolates from CSF in place of cephalothin and cefazolin.

i. Strains of *Klebsiella* spp., *E. coli,* and *P. mirabilis* that produce ESBLs may be clinically resistant to therapy with penicillins, cephalosporins, or aztreonam, despite apparent *in vitro* susceptibility to some of these agents. Some of these strains will show MICs above the normal susceptible population but below the standard breakpoints for certain extended-spectrum cephalosporins or aztreonam; such strains may be screened for potential ESBL production by using the screening breakpoints listed **in Appendix A**, Initial Screen Test. Other strains may test intermediate or resistant by standard breakpoints to one or more of these agents. In all strains with ESBLs, the MICs for one or more of the extended-spectrum cephalosporins or aztreonam should decrease in the presence of clavulanic acid as described **in Appendix A**, Phenotypic Confirmatory Test. For all confirmed ESBL-producing strains, the test interpretation should be reported as resistant for all penicillins, cephalosporins, and aztreonam. (See Glossary I for specific agents included in the antimicrobial class, penicillins, and antimicrobial subclass, cephalosporins.)

Pseudomonas aeruginosa and Other Non-Enterobacteriaceae

j. Other non-Enterobacteriaceae include *Pseudomonas* spp. and other nonfastidious, glucose-nonfermenting, gram-negative bacilli but exclude ***Pseudomonas aeruginosa***, *Acinetobacter* spp., *Burkholderia cepacia*, and *Stenotrophomonas maltophilia,* since there are separate lists of suggested drugs to test and report for them.

Staphylococcus spp.

k. Penicillin-susceptible staphylococci are also susceptible to other penicillins, cephems, and carbapenems approved for use by the FDA for staphylococcal infections. Penicillin-resistant, oxacillin-susceptible strains are resistant to penicillinase-labile penicillins but susceptible to other penicillinase-stable penicillins, β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations, relevant cephems, and carbapenems. (See Glossary I for specific agents included in the antimicrobial class or antimicrobial subclass indicated.) Oxacillin-resistant staphylococci are resistant to all currently available β-lactam antibiotics. Thus, susceptibility or resistance to a wide array of β-lactam antibiotics may be deduced from testing only penicillin and oxacillin. Routine testing of other penicillins, β-lactamase inhibitor combinations, cephems, and carbapenems is not advised.

l. For reporting against methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 1. (Continued)

Enterococcus spp.

m. **Warning:** For *Enterococcus* spp., cephalosporins, aminoglycosides (except for high-level resistance screening), clindamycin, and trimethoprim-sulfamethoxazole may appear active *in vitro* but are not effective clinically and should not be reported as susceptible.

n. Enterococci susceptible to penicillin are predictably susceptible to ampicillin, amoxicillin, ampicillin-sulbactam, amoxicillin-clavulanate, piperacillin, and piperacillin-tazobactam for non-β-lactamase-producing enterococci. However, enterococci susceptible to ampicillin cannot be assumed to be susceptible to penicillin. If penicillin results are needed, testing of penicillin is required. ***Rx:*** Combination therapy of ampicillin, penicillin, or vancomycin (for susceptible strains) plus an aminoglycoside, is usually indicated for serious enterococcal infections, such as endocarditis unless high-level resistance to both gentamicin and streptomycin is documented; such combinations are predicted to result in synergistic killing of the enterococcus.

o. For reporting against vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

This page is intentionally left blank.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 1A. Suggested Groupings of Antimicrobial Agents With FDA Clinical Indications That Should Be Considered for Routine Testing and Reporting on Fastidious Organisms by Clinical Microbiology Laboratories in the United States

	***Haemophilus* spp.**[e]	***Neisseria gonorrhoeae***[i]	***Streptococcus pneumoniae***	***Streptococcus* spp. Beta-hemolytic group**[q]	***Streptococcus* spp. Viridans group**[q]
GROUP A PRIMARY TEST AND REPORT	Ampicillin[e,g]		Erythromycin[a]	**Clindamycin**[m,p] Erythromycin[a,m,p]	Ampicillin[l] Penicillin[l]
			Penicillin[j]	Penicillin[n] or Ampicillin[n]	
	Trimethoprim-sulfamethoxazole		Trimethoprim-sulfamethoxazole		
GROUP B[b] **PRIMARY TEST REPORT SELECTIVELY**	Ampicillin-sulbactam		Cefepime Cefotaxime[j] Ceftriaxone[j]	**Cefepime or cefotaxime or ceftriaxone**	**Cefepime Cefotaxime Ceftriaxone**
	Cefuroxime (parenteral)		Clindamycin[m]		
	Cefotaxime[e] or ceftazidime or ceftriaxone[e]		Gemifloxacin Levofloxacin Moxifloxacin Ofloxacin	Vancomycin	Vancomycin
	Chloramphenicol[e,m]		Meropenem[j]		
	Meropenem[e,h]		Telithromycin		
			Tetracycline[d]		
			Vancomycin[j]		
GROUP C[c] **SUPPLEMENTAL REPORT SELECTIVELY**	Azithromycin[f] Clarithromycin[f]	Cefixime or cefpodoxime	Amoxicillin Amoxicillin-clavulanic acid	**Chloramphenicol**[m]	**Chloramphenicol**[m]
	Aztreonam				**Clindamycin**[m]
	Amoxicillin-clavulanic acid[f]	Cefotaxime or ceftriaxone			**Erythromycin**[a,m]
	Cefaclor[f] Cefprozil[f]	Cefoxitin Cefuroxime	Cefuroxime	Daptomycin	
	Cefdinir[f] or cefixime[f] or cefpodoxime[f]			Levofloxacin Ofloxacin	
	Cefuroxime[f] (oral)	Ciprofloxacin or ofloxacin	Chloramphenicol[m]	Linezolid	Linezolid
	Ciprofloxacin or levofloxacin or lomefloxacin or moxifloxacin or ofloxacin Gemifloxacin	Penicillin	Ertapenem Imipenem	Quinupristin-dalfopristin[o]	
			Linezolid		
	Ertapenem or imipenem	Spectinomycin	Rifampin[k]		
	Rifampin	Tetracycline[d]			
	Telithromycin[f]				
	Tetracycline[d]				

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 1A. (Continued)

"Warning": The following antimicrobial agents should not be routinely reported for bacteria isolated from CSF, which are included in this document. These antimicrobial agents are not the drugs of choice and may not be effective for treating CSF infections caused by these organisms (ie, the bacteria included in Tables 2A to 2J):

agents administered by oral route only
1st- and 2nd-generation cephalosporins (except cefuroxime sodium)
clindamycin
macrolides
tetracyclines
fluoroquinolones

NOTE 1: Selection of the most appropriate antimicrobial agents to test and to report is a decision made best by each clinical laboratory in consultation with the infectious disease practitioners and the pharmacy, as well as the pharmacy and therapeutics and infection control committees of the medical staff. The lists for each organism group comprise agents of proven efficacy that show acceptable *in vitro* test performance. Considerations in the assignment of agents to Groups A, B, and C include clinical efficacy, prevalence of resistance, minimizing emergence of resistance, cost, FDA clinical indications for usage and current consensus recommendations for first-choice and alternative drugs, in addition to the specific comments in footnotes "b" and "c." Tests on selected agents may be useful for infection control purposes.

NOTE 2: The listing of drugs together in a single box designates clusters of agents for which interpretive results (susceptible, intermediate, or resistant) and clinical efficacy are similar. Therefore, only one of the agents within each box need be selected for testing. Within each box, an "or" between agents designates those agents for which cross-resistance and cross-susceptibility are nearly complete. This means combined major and very major errors are fewer than 3% and minor errors are fewer than 10%, based on a large population of bacteria tested. In addition, to qualify for an "or," at least 100 strains with resistance to the agents in question must be tested and a result of "resistant" must be obtained with all agents for at least 95% of the strains. "Or" is also used for comparable antimicrobial agents when tested against organisms for which "susceptible-only" interpretive criteria are provided (eg, cefotaxime or ceftriaxone with *Haemophilus influenzae*). Thus, results from one agent connected by an "or" could be used to predict results for the other agent (eg, a non-ESBL-producing isolate of Enterobacteriaceae susceptible to cefotaxime can be considered susceptible to ceftriaxone). The agents reported should be the agents tested unless reporting based on testing another agent provides a more accurate result (eg, susceptibility of staphylococci to oxacillin based on cefoxitin testing), and they usually should match those included in the hospital formulary. Unexpected resistance should be reported (eg, resistance of Enterobacteriaceae to carbapenems).

NOTE 3: Information in boldface type is considered tentative for one year.

Footnotes

General Comments

a. Susceptibility and resistance to azithromycin, clarithromycin, and dirithromycin can be predicted by testing erythromycin.

b. Group B represents agents that may warrant primary testing but which should be reported only selectively, such as when the organism is resistant to agents of the same class in Group A. Other indications for reporting the result might include selected specimen sources (eg, third-generation cephalosporin for isolates of *Haemophilus influenzae* from CSF); stated allergy or intolerance, or failure to respond to an agent in Group A; polymicrobial infections; infections involving multiple sites with different microorganisms; or reports to infection control for epidemiologic aid.

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 1A. (Continued)

c. Group C represents alternative or supplemental antimicrobial agents that may require testing in those institutions that harbor endemic or epidemic strains resistant to one or more of the primary drugs (especially in the same class, eg, β-lactams), or for treatment of unusual organisms (**eg, extraintestinal isolates of *Salmonella* spp.**), or reporting to infection control as an epidemiologic aid.

d. Organisms that are susceptible to tetracycline are also considered susceptible to doxycycline and minocycline.

Haemophilus spp.

e. Only results of testing with ampicillin, one of the third-generation cephalosporins, chloramphenicol, and meropenem should be reported routinely with CSF isolates of *H. influenzae*.

f. Amoxicillin-clavulanic acid, azithromycin, clarithromycin, cefaclor, cefprozil, loracarbef, cefdinir, cefixime, cefpodoxime, cefuroxime, and telithromycin are oral agents that may be used as empiric therapy for respiratory tract infections due to *Haemophilus* spp. The results of susceptibility tests with these antimicrobial agents are often not useful for management of individual patients. However, susceptibility testing of *Haemophilus* spp. with these compounds may be appropriate for surveillance or epidemiologic studies.

g. The results of ampicillin susceptibility tests should be used to predict the activity of amoxicillin. The majority of isolates of *H. influenzae* that are resistant to ampicillin and amoxicillin produce a TEM-type β-lactamase. In most cases, a direct β-lactamase test can provide a rapid means of detecting ampicillin and amoxicillin resistance.

h. Clinical indications and relevant pathogens include bacterial meningitis and concurrent bacteremia in association with meningitis caused by *H. influenzae* (β-lactamase- and non-β-lactamase-producing strains).

Neisseria gonorrhoeae

i. A β-lactamase test will detect one form of penicillin resistance in *N. gonorrhoeae* and also may be used to provide epidemiologic information. Strains with chromosomally mediated resistance can be detected only by additional susceptibility testing, such as the disk diffusion method or the agar dilution MIC method.

Streptococcus pneumoniae

j. Only results of testing with penicillin, vancomycin, and cefotaxime or ceftriaxone or meropenem should be reported routinely for CSF isolates of *S. pneumoniae*.

k. ***Rx:*** Rifampin should not be used alone for antimicrobial therapy.

Streptococcus spp.

l. ***Rx:*** Penicillin- or ampicillin-intermediate isolates may require combined therapy with an aminoglycoside for bactericidal action.

m. Not routinely reported for organisms isolated from the urinary tract.

n. Susceptibility testing of penicillins and other β-lactams approved by FDA for treatment of *Streptococcus pyogenes* or *S. agalactiae* is not necessary for clinical purposes and need not be done routinely, since as with vancomycin, resistant strains have not been recognized. Interpretive criteria are provided for pharmaceutical development, epidemiology, or monitoring for emerging resistance. Any strains found to be intermediate or resistant should be referred to a reference laboratory for confirmation.

o. Report against *S. pyogenes*.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 1A. (Continued)

p. ***Rx:*** Recommendations for intrapartum prophylaxis for Group B streptococci are penicillin or ampicillin. While cefazolin is recommended for penicillin-allergic women at low risk for anaphylaxis, those at high risk for anaphylaxis may receive clindamycin or erythromycin. Group B streptococci are susceptible to ampicillin, penicillin, and cefazolin, but may be resistant to clindamycin and/or erythromycin. When a Group B streptococcus is isolated from a pregnant woman with severe penicillin allergy (high risk for anaphylaxis), clindamycin and erythromycin should be tested and reported.

q. For this table, the beta-hemolytic group includes the large-colony-forming pyogenic strains of streptococci with Group A (*S. pyogenes*), C, or G antigens, and strains with Group B (*S. agalactiae*) antigen. Small-colony-forming beta-hemolytic strains with Group A, C, F, or G antigens (*S. anginosus*, previously termed *"S. milleri"*) are considered part of the viridans group, and interpretive criteria for the viridans group should be used.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 1B. Antimicrobial Agents That Should Be Tested[a] and Reported on Potential Agents of Bioterrorism

	Bacillus anthracis	***Yersinia pestis***	***Burkholderia mallei***	***Burkholderia pseudomallei***
GROUP A PRIMARY TEST AND REPORT	Penicillin[b]	Gentamicin	Ceftazidime	Amoxicillin-clavulanic acid
	Doxycycline	Streptomycin	Doxycycline	Ceftazidime
	Tetracycline		Tetracycline	
	Ciprofloxacin	Doxycycline	Imipenem	Doxycycline
		Tetracycline		Tetracycline
		Ciprofloxacin		Imipenem
		Chloramphenicol		Trimethoprim-sulfamethoxazole
		Trimethoprim-sulfamethoxazole		

Footnotes

a. Extreme Caution: Notify public health officials of all isolates presumptively identified as *B. anthracis, Y. pestis, B. mallei, B. pseudomallei,* or *F. tularensis*. Confirmation of isolates of these bacteria may require specialized testing only available in reference or public health laboratories.

b. Organisms that are susceptible to penicillin are also considered susceptible to amoxicillin.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

This page is intentionally left blank.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 2A. MIC Interpretive Standards (μg/mL) for Enterobacteriaceae

Testing Conditions

Medium: Broth dilution: Cation-adjusted Mueller-Hinton broth (CAMHB)
Agar dilution: Mueller Hinton agar (MHA)
Inoculum: Growth method or direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation: 35 ± 2 °C; ambient air; 16 to 20 hours

Minimal QC Recommendations (See Table 3 for acceptable QC ranges.)

Escherichia coli ATCC® 25922
Escherichia coli ATCC® 35218 (for β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations)

General Comments

(1) When fecal isolates of *Salmonella* and *Shigella* spp. are tested, only ampicillin, a **quinolone and/or a** fluoroquinolone, and trimethoprim-sulfamethoxazole should be reported routinely. In addition, chloramphenicol and a third-generation cephalosporin should be tested and reported for extraintestinal isolates of *Salmonella* spp.

(2) Refer to Table 2K for testing of *Y. pestis*.

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (μg/mL) Interpretive Standard			Comments
		S	I	R	
PENICILLINS					
A	Ampicillin	≤ 8	16	≥ 32	(3) Class representative for ampicillin and amoxicillin. **See comment (1).**
B	Piperacillin	≤ 16	32-64	≥ 128	
U/Inv.	Mecillinam	≤ 8	16	≥ 32	(4) For use against *E. coli* for urinary tract isolates only.
O	Carbenicillin	≤ 16	32	≥ 64	
O	Mezlocillin	≤ 16	32-64	≥ 128	
O	Ticarcillin	≤ 16	32-64	≥ 128	
β-LACTAM/β-LACTAMASE INHIBITOR COMBINATIONS					
B	Amoxicillin-clavulanic acid	≤ 8/4	16/8	≥ 32/16	
B	Ampicillin-sulbactam	≤ 8/4	16/8	≥ 32/16	
B	Piperacillin-tazobactam	≤ 16/4	32/4-64/4	≥ 128/4	
B	Ticarcillin-clavulanic acid	≤ 16/2	32/2-64/2	≥ 128/2	

© Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2A. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (μg/mL) Interpretive Standard S	I	R	Comments
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)					(5) **WARNING:** For *Salmonella* spp. and *Shigella* spp., first- and second-generation cephalosporins and cephamycins may appear active *in vitro* but are not effective clinically and should not be reported as susceptible. (6) Strains of *Klebsiella* spp. and *E. coli* that produce extended-spectrum β-lactamase (ESBLs) may be clinically resistant to therapy with penicillins, cephalosporins, or aztreonam, despite apparent *in vitro* susceptibility to some of these agents. Some of these strains will show MICs above the normal susceptible population but below the standard breakpoints for certain extended-spectrum cephalosporins or aztreonam. Such strains should be screened for potential ESBL production by using the ESBL screening breakpoints listed **in Appendix A** before reporting results for penicillins, extended-spectrum cephalosporins, or aztreonam. Other strains may test intermediate or resistant by standard breakpoints to one or more of these agents. In all strains with ESBLs, the MICs for one or more of the extended-spectrum cephalosporins or aztreonam should decrease in the presence of clavulanic acid as determined in phenotypic confirmatory testing. For all confirmed ESBL-producing strains, the test interpretation should be reported as resistant for all penicillins, cephalosporins, and aztreonam. (Refer to Appendix A for screening and confirmatory tests for ESBLs. Refer to the glossary for definitions of penicillins and cephalosporins.) The decision to perform ESBL screening tests on all urine isolates should be made on an institutional basis, considering prevalence, therapy, and infection control issues. (7) Routine screening of *Proteus mirabilis* for ESBL production is not recommended. However, when it is deemed clinically relevant (eg, a bacteremic isolate), the ESBL screen testing MIC breakpoints, ceftazidime (MIC ≥ 2 μg/mL), cefotaxime (MIC ≥ 2 μg/mL), or cefpodoxime (MIC ≥ 2 μg/mL rather than ≥ 8 μg/mL) will identify presumptive ESBL production. The phenotypic confirmatory test using ceftazidime and cefotaxime alone and in combination with clavulanic acid can confirm ESBL-producing strains. For all confirmed ESBL-producing *P. mirabilis*, the test interpretation should be reported as resistant for all penicillins, cephalosporins, and aztreonam. Refer to Appendix A for screening and confirmatory tests for ESBLs. (8) *Enterobacter, Citrobacter*, and *Serratia* spp. may develop resistance during prolonged therapy with third-generation cephalosporins. Therefore, isolates that are initially susceptible may become resistant within three to four days after initiation of therapy. Testing of repeat isolates may be warranted.
A A	Cefazolin Cephalothin	≤ 8 ≤ 8	16 16	≥ 32 ≥ 32	(9) Cephalothin can be used to predict activity of cephalothin, cephapirin, cephradine, cephalexin, cefaclor, and cefadroxil. Cefazolin, cefuroxime, cefpodoxime, cefprozil, and loracarbef (urinary isolates only) may be tested individually, because some isolates may be susceptible to these agents when resistant to cephalothin.
B	Cefepime	≤ 8	16	≥ 32	
B	Cefoperazone	≤ 16	32	≥ 64	
B B	Cefotaxime or ceftriaxone	≤ 8 ≤ 8	16-32 16-32	≥ 64 ≥ 64	(10) Cefotaxime and ceftriaxone should be tested and reported on isolates from CSF in place of cephalothin and cefazolin.
B	Cefoxitin	≤ 8	16	≥ 32	
B	Cefuroxime (parenteral)	≤ 8	16	≥ 32	
C	Ceftazidime	≤ 8	16	≥ 32	See comment (6).
O	Cefamandole	≤ 8	16	≥ 32	
O	Cefmetazole	≤ 16	32	≥ 64	
O	Cefonicid	≤ 8	16	≥ 32	
O	Cefotetan	≤ 16	32	≥ 64	

Table 2A
Enterobacteriaceae
M7-MIC

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2A. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (μg/mL) Interpretive Standard			Comments
		S	I	R	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Continued)					
O	Ceftizoxime	≤ 8	16-32	≥ 64	See comment (6).
O	Moxalactam	≤ 8	16-32	≥ 64	
CEPHEMS (ORAL)					
B	Cefuroxime (oral)	≤ 4	8-16	≥ 32	
O	Loracarbef	≤ 8	16	≥ 32	
O	Cefaclor	≤ 8	16	≥ 32	
O	Cefdinir	≤ 1	2	≥ 4	
O	Cefixime	≤ 1	2	≥ 4	
O	Cefpodoxime	≤ 2	4	≥ 8	See comment (6).
O	Cefprozil	≤ 8	16	≥ 32	
Inv.	Cefetamet	≤ 4	8	≥ 16	
Inv.	Ceftibuten	≤ 8	16	≥ 32	(11) Indicated for urine isolates only.
CARBAPENEMS					
B	Ertapenem	≤ 2	4	≥ 8	**(12) Carbapenemases (including the *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases [KPC] and other carbapenem-hydrolyzing beta-lactamases) are being increasingly detected in clinical isolates of *Enterobacteriaceae*, particularly *K. pneumoniae,* in some geographic regions. Clinical isolates of *Enterobacteriaceae* harboring these carbapenemases may be resistant to therapy with carbapenem agents, despite apparent *in vitro* susceptibility using current CLSI breakpoints.** ***Enterobacteriaceae* that are resistant to extended-spectrum cephalosporins and have carbapenem (meropenem, imipenem, ertapenem) MICs of 2 or 4 μg/mL may produce KPC-type or other carbapenemases. In regions where carbapenemases are rare in *Enterobacteriaceae*, such isolates should be sent to a reference laboratory for further characterization.**
B	Imipenem	≤ 4	8	≥ 16	
B	Meropenem	≤ 4	8	≥ 16	
MONOBACTAMS					
C	Aztreonam	≤ 8	16	≥ 32	See comment (6).
AMINOGLYCOSIDES					(13) **WARNING:** For *Salmonella* spp. and *Shigella* spp., aminoglycosides may appear active *in vitro* but are not effective clinically, and isolates should not be reported as susceptible.
A	Gentamicin	≤ 4	8	≥ 16	
A	Tobramycin	≤ 4	8	≥ 16	
B	Amikacin	≤ 16	32	≥ 64	
O	Kanamycin	≤ 16	32	≥ 64	
O	Netilmicin	≤ 8	16	≥ 32	
TETRACYCLINES					
C	Tetracycline	≤ 4	8	≥ 16	(14) Organisms that are susceptible to tetracycline are also considered susceptible to doxycycline and minocycline. However, some organisms that are intermediate or resistant to tetracycline may be susceptible to doxycycline or minocycline or both.
O	Doxycycline	≤ 4	8	≥ 16	
O	Minocycline	≤ 4	8	≥ 16	

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2A. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (μg/mL) Interpretive Standard			Comments
		S	I	R	
FLUOROQUINOLONES					(15) Fluoroquinolone-susceptible strains of *Salmonella* that test resistant to nalidixic acid may be associated with clinical failure or delayed response in fluoroquinolone-treated patients with extraintestinal salmonellosis. Extraintestinal isolates of *Salmonella* should also be tested for resistance to nalidixic acid. For isolates that test susceptible to fluoroquinolones and resistant to nalidixic acid, the physician should be informed that the isolate may not be eradicated by fluoroquinolone treatment. A consultation with an infectious disease practitioner is recommended. **See comment (1).**
B	Ciprofloxacin	≤ 1	2	≥ 4	
B	Levofloxacin	≤ 2	4	≥ 8	
U	Lomefloxacin or	≤ 2	4	≥ 8	
U	ofloxacin	≤ 2	4	≥ 8	
U	Norfloxacin	≤ 4	8	≥ 16	
O	Enoxacin	≤ 2	4	≥8	
O	Gatifloxacin	≤ 2	4	≥ 8	
O	Gemifloxacin	≤ 0.25	0.5	≥ 1	(16) FDA-approved for *Klebsiella pneumoniae.*
O	Grepafloxacin	≤ 1	2	≥ 4	
Inv.	Fleroxacin	≤ 2	4	≥ 8	
QUINOLONES					
O	Cinoxacin	≤ 16	32	≥ 64	
O	Nalidixic acid	≤ 16	-	≥ 32	See comment (11). (17) In addition to testing urine isolates, nalidixic acid may be used to test for reduced fluoroquinolone susceptibility in isolates from patients with extraintestinal *Salmonella* infections. See comment (15).
FOLATE PATHWAY INHIBITORS					
B	Trimethoprim-sulfamethoxazole	≤ 2/38	-	≥ 4/76	**See comment (1).**
U	Sulfonamides	≤ 256	-	≥ 512	(18) Sulfisoxazole can be used to represent any of the currently available sulfonamide preparations.
U	Trimethoprim	≤ 8	-	≥ 16	
PHENICOLS					
C	Chloramphenicol	≤ 8	16	≥32	(19) Not routinely reported against organisms isolated from the urinary tract.
FOSFOMYCINS					
O	Fosfomycin	≤ 64	128	≥ 256	(20) For use with *E. coli* **urinary tract isolates** only. The approved MIC susceptibility testing method is agar dilution. Agar media should be supplemented with 25 μg/mL of glucose-6-phosphate. Broth dilution should not be performed.
NITROFURANTOINS					
U	Nitrofurantoin	≤ 32	64	≥ 128	

Table 2A
Enterobacteriaceae
M7-MIC

Table 2B-1. MIC Interpretive Standards (μg/mL) for *Pseudomonas aeruginosa*

Testing Conditions

Medium: Broth dilution: Cation-adjusted Mueller-Hinton broth (CAMHB)
Agar dilution: Mueller-Hinton agar (MHA)
Inoculum: Growth method or direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation: 35 ± 2 °C; ambient air; 16 to 20 hours

Minimal QC Recommendations (See Table 3 for Acceptable QC Ranges.)

Pseudomonas aeruginosa ATCC® 27853
Escherichia coli ATCC® 25922
Escherichia coli ATCC® 35218 (for β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations)

General Comments

(1) The susceptibility of *P. aeruginosa* isolated from patients with cystic fibrosis can be reliably determined by the reference agar dilution or frozen reference broth microdilution methods, but may require extended incubation up to 24 hours before reporting as susceptible.

(2) *P. aeruginosa* may develop resistance during prolonged therapy with all antibiotics. Therefore, isolates that are initially susceptible may become resistant within three to four days after initiation of therapy. Testing of repeat isolates may be warranted.

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (μg/mL) Interpretive Standard			Comments
		S	I	R	
PENICILLINS					(3) ***Rx:*** The susceptible category for these drugs implies the need for high-dose therapy for serious infections caused by *P. aeruginosa*. For these infections, monotherapy has been associated with clinical failure. The addition of a second antimicrobial agent (eg, fluoroquinolone, aminoglycoside) with *in vitro* activity against *P. aeruginosa* should be considered.
A	Piperacillin	≤ 64	-	≥ 128	
B	Ticarcillin	≤ 64	-	≥ 128	
O	Azlocillin	≤ 64	-	≥ 128	
O	Carbenicillin	≤ 128	256	≥ 512	
O	Mezlocillin	≤ 64	-	≥ 128	
β-LACTAM/β-LACTAMASE INHIBITOR COMBINATIONS					See comment (3).
B	Piperacillin-tazobactam	≤ 64/4	-	≥ 128/4	
O	Ticarcillin-clavulanic acid	≤ 64/2	-	≥ 128/2	

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2B-1. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (μg/mL) Interpretive Standard			Comments
		S	I	R	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)					
A	Ceftazidime	≤ 8	16	≥ 32	
B	Cefepime	≤ 8	16	≥ 32	
O	Cefoperazone	≤ 16	32	≥ 64	
O	Cefotaxime	≤ 8	16-32	≥ 64	
O	Ceftriaxone	≤ 8	16-32	≥ 64	
O	Ceftizoxime	≤ 8	16-32	≥ 64	
O	Moxalactam	≤ 8	16-32	≥ 64	
CARBAPENEMS					
B	Imipenem	≤ 4	8	≥ 16	
B	Meropenem	≤ 4	8	≥ 16	
LIPOPEPTIDES					
O	Colistin	≤ 2	4	≥ 8	
O	Polymyxin B	≤ 2	4	≥ 8	
MONOBACTAMS					
B	Aztreonam	≤ 8	16	≥ 32	
AMINOGLYCOSIDES					
A	Gentamicin	≤ 4	8	≥ 16	
A	Tobramycin	≤ 4	8	≥ 16	
B	Amikacin	≤ 16	32	≥ 64	
O	Netilmicin	≤ 8	16	≥ 32	
FLUOROQUINOLONES					
B	Ciprofloxacin	≤ 1	2	≥ 4	
B	Levofloxacin	≤ 2	4	≥ 8	
U	Lomefloxacin or	≤ 2	4	≥ 8	
U	ofloxacin	≤ 2	4	≥ 8	
U	Norfloxacin	≤ 4	8	≥ 16	
O	Gatifloxacin	≤ 2	4	≥ 8	(4) This breakpoint applies to isolates from the urinary tract only.

Table 2B-1
Pseudomonas aeruginosa
M7-MIC

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2B-2. MIC Interpretive Standards (μg/mL) for *Acinetobacter* spp.

Testing Conditions

Medium: Broth dilution: Cation-adjusted Mueller-Hinton broth (CAMHB)
Agar dilution: Mueller-Hinton agar (MHA)
Inoculum: Growth method or direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation: 35 ± 2 °C; ambient air; 20 to 24 hours

Minimal QC Recommendations (See Table 3 for Acceptable QC Ranges.)

Pseudomonas aeruginosa ATCC® 27853
Escherichia coli ATCC® 25922
Escherichia coli ATCC® 35218 (for β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations)

General Comment

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (μg/mL) Interpretive Standard			Comments
		S	I	R	
PENICILLINS					
B	Piperacillin	≤ 16	32-64	≥ 128	
O	Mezlocillin	≤ 16	32-64	≥ 128	
O	Ticarcillin	≤ 16	32-64	≥ 128	
β-LACTAM/β-LACTAMASE INHIBITOR COMBINATIONS					
A	Ampicillin-sulbactam	≤ 8/4	16/8	≥ 32/16	
B	Piperacillin-tazobactam	≤ 16/4	32/4-64/4	≥ 128/4	
B	Ticarcillin-clavulanic acid	≤ 16/2	32/2-64/2	≥ 128/2	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)					
A	Ceftazidime	≤ 8	16	≥ 32	
B	Cefepime	≤ 8	16	≥ 32	
B	Cefotaxime	≤ 8	16-32	≥ 64	
B	Ceftriaxone	≤ 8	16-32	≥ 64	
CARBAPENEMS					
A	Imipenem	≤ 4	8	≥ 16	
A	Meropenem	≤ 4	8	≥ 16	
LIPOPEPTIDES					
C	Polymyxin B	≤ 2	-	≥ 4	
C	Colistin	≤ 2	-	≥ 4	

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2B-2. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (μg/mL) Interpretive Standard			Comments
		S	I	R	
AMINOGLYCOSIDES					
A	Gentamicin	≤ 4	8	≥ 16	
A	Tobramycin	≤ 4	8	≥ 16	
B	Amikacin	≤ 16	32	≥ 64	
O	Netilmicin	≤ 8	16	≥ 32	
TETRACYCLINES					(1) Organisms that are susceptible to tetracycline are also considered susceptible to doxycycline and minocycline. However, some organisms that are intermediate or resistant to tetracycline may be susceptible to doxycycline or minocycline or both.
B	Doxycycline	≤ 4	8	≥ 16	
B	Minocycline	≤ 4	8	≥ 16	
B	Tetracycline	≤ 4	8	≥ 16	
FLUOROQUINOLONES					
A **A**	Ciprofloxacin Levofloxacin	≤ 1 ≤ 2	2 4	≥ 4 ≥ 8	
O	Gatifloxacin	≤ 2	4	≥ 8	
FOLATE PATHWAY INHIBITORS					
B	Trimethoprim-sulfamethoxazole	≤ 2/38	-	≥ 4/76	

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2B-2
Acinetobacter spp.
M7-MIC

Table 2B-3. MIC Interpretive Standards (μg/mL) for *Burkholderia cepacia*

Testing Conditions

Medium: Broth dilution: Cation-adjusted Mueller-Hinton broth (CAMHB)
Agar dilution: Mueller-Hinton agar (MHA)
Inoculum: Growth method or direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation: 35 ± 2 °C; ambient air; 20 to 24 hours

Minimal QC Recommendations (See Table 3 for Acceptable QC Ranges.)

Pseudomonas aeruginosa ATCC® 27853
Escherichia coli ATCC® 25922
Escherichia coli ATCC® 35218 (for β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations)

General Comment

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (μg/mL) Interpretive Standard			Comments
		S	I	R	
β-LACTAM/β-LACTAMASE INHIBITOR COMBINATIONS					
B	Ticarcillin-clavulanic acid	≤ 16/2	32/2-64/2	≥ 128/2	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)					
B	Ceftazidime	≤ 8	16	≥ 32	
CARBAPENEMS					
B	Meropenem	≤ 4	8	≥ 16	
TETRACYCLINES					
B	Minocycline	≤ 4	8	≥ 16	
FLUOROQUINOLONES					
B	Levofloxacin	≤ 2	4	≥ 8	
PHENICOLS					
B	Chloramphenicol	≤ 8	16	≥ 32	(1) Not routinely reported on isolates from the urinary tract.
FOLATE PATHWAY INHIBITORS					
A	Trimethoprim-sulfamethoxazole	≤ 2/38	-	≥ 4/76	

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2B-4. MIC Interpretive Standards (μg/mL) for *Stenotrophomonas maltophilia*

Testing Conditions

Medium: Broth dilution: Cation-adjusted Mueller-Hinton broth (CAMHB)
Agar dilution: Mueller-Hinton agar (MHA)
Inoculum: Growth method or direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation: 35 ± 2 °C; ambient air; 20 to 24 hours

Minimal QC Recommendations (See Table 3 for Acceptable QC Ranges.)

Pseudomonas aeruginosa ATCC® 27853
Escherichia coli ATCC® 25922
Escherichia coli ATCC® 35218 (for β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations)

General Comment

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (μg/mL) Interpretive Standard			Comments
		S	I	R	
β-LACTAM/β-LACTAMASE INHIBITOR COMBINATIONS					
B	Ticarcillin-clavulanic acid	≤ 16/2	32/2-64/2	≥ 128/2	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)					
B	Ceftazidime	≤ 8	16	≥ 32	
TETRACYCLINES					
B	Minocycline	≤ 4	8	≥ 16	
FLUOROQUINOLONES					
B	Levofloxacin	≤ 2	4	≥ 8	
FOLATE PATHWAY INHIBITORS					
A	Trimethoprim-sulfamethoxazole	≤ 2/38	-	≥ 4/76	
PHENICOLS					
B	Chloramphenicol	≤ 8	16	≥ 32	(1) Not routinely reported on isolates from the urinary tract.

Table 2B-4
Stenotrophomonas maltophilia
M7-MIC

Table 2B-5. MIC Interpretive Standards (μg/mL) for Other Non-Enterobacteriaceae (Refer to Comment 1)

Testing Conditions

Medium: Broth dilution: Cation-adjusted Mueller-Hinton broth (CAMHB)
Agar dilution: Mueller-Hinton agar (MHA)
Inoculum: Growth method or direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation: 35 ± 2 °C; ambient air; 16 to 20 hours

Minimal QC Recommendations (See Table 3 for Acceptable QC Ranges.)

Pseudomonas aeruginosa ATCC® 27853
Escherichia coli ATCC® 25922
Escherichia coli ATCC® 35218 (for β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations)

General Comments

(1) Other non-Enterobacteriaceae include *Pseudomonas* spp. **(not *P. aeruginosa*)** and other nonfastidious, glucose-nonfermenting, gram-negative bacilli **but exclude *P. aeruginosa,*** *Acinetobacter* spp., *Burkholderia cepacia, B. mallei, B. pseudomallei,* and *Stenotrophomonas maltophilia*. Refer to Tables 2B-2, 2B-3, and 2B-4 for testing of *Acinetobacter* spp., *B. cepacia,* and *S. maltophilia,* respectively, and Table 2K for testing of *Burkholderia mallei* and *B. pseudomallei*.

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (μg/mL) Interpretive Standard			Comments
		S	I	R	
PENICILLINS					
A	Piperacillin	≤ 16	32-64	≥ 128	
O	Mezlocillin	≤ 16	32-64	≥ 128	
O	Ticarcillin	≤ 16	32-64	≥ 128	
O	Carbenicillin	≤ 16	32	≥ 64	
β-LACTAM/β-LACTAMASE INHIBITOR COMBINATIONS					See comment (4).
B	Ticarcillin-clavulanic acid	≤ 16/2	32/2-64/2	≥ 128/2	
B	Piperacillin-tazobactam	≤ 16/4	32/4-64/4	≥128/4	

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

© Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2B-5. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (μg/mL) Interpretive Standard			Comments
		S	I	R	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)					
A	Ceftazidime	≤ 8	16	≥ 32	
B	Cefepime	≤ 8	16	≥ 32	
C	Cefotaxime	≤ 8	16-32	≥ 64	
C	Ceftriaxone	≤ 8	16-32	≥ 64	
O	Cefoperazone	≤ 16	32	≥ 64	
O	Ceftizoxime	≤ 8	16-32	≥ 64	
O	Moxalactam	≤ 8	16-32	≥ 64	
CARBAPENEMS					
B	Imipenem	≤ 4	8	≥ 16	
B	Meropenem	≤ 4	8	≥ 16	
LIPOPEPTIDES					
O	Colistin	≤ 2	4	≥ 8	
O	Polymyxin B	≤ 2	4	≥ 8	
MONOBACTAMS					
B	Aztreonam	≤ 8	16	≥ 32	
AMINOGLYCOSIDES					
A	Gentamicin	≤ 4	8	≥ 16	
A	Tobramycin	≤ 4	8	≥ 16	
B	Amikacin	≤ 16	32	≥ 64	
O	Netilmicin	≤ 8	16	≥ 32	
TETRACYCLINES					(2) Organisms that are susceptible to tetracycline are also considered susceptible to doxycycline and minocycline. However, some organisms that are intermediate or resistant to tetracycline may be susceptible to doxycycline or minocycline or both.
U	Tetracycline	≤ 4	8	≥ 16	
O	Doxycycline	≤ 4	8	≥ 16	
O	Minocycline	≤ 4	8	≥ 16	
FLUOROQUINOLONES					
B	Ciprofloxacin	≤ 1	2	≥ 4	
B	Levofloxacin	≤ 2	4	≥ 8	
U	Lomefloxacin or	≤ 2	4	≥ 8	
U	ofloxacin	≤ 2	4	≥ 8	
U	Norfloxacin	≤ 4	8	≥ 16	
O	Gatifloxacin	≤ 2	4	≥ 8	(3) This breakpoint applies to isolates from the urinary tract only.
FOLATE PATHWAY INHIBITORS					
B	Trimethoprim-sulfamethoxazole	≤ 2/38	-	≥ 4/76	
U	Sulfonamides	≤ 256	-	≥ 512	(4) Sulfisoxazole can be used to represent any of the currently available sulfonamide preparations. See comment (6).
PHENICOLS					
C	Chloramphenicol	≤ 8	16	≥ 32	(5) Not routinely reported on isolates from the urinary tract.

Table 2B-5
Non-Enterobacteriaceae
M7-MIC

Table 2C. MIC Interpretive Standards (μg/mL) for *Staphylococcus* spp.

Testing Conditions

Medium: Broth dilution: Cation-adjusted Mueller-Hinton broth (CAMHB); CAMHB plus 2% NaCl for oxacillin, methicillin, and nafcillin; CAMHB supplemented to 50 μg/mL calcium for daptomycin
Agar dilution: Mueller-Hinton agar (MHA); Agar dilution has not been validated for daptomycin.
MHA plus 2% NaCl for oxacillin, methicillin, and nafcillin

Inoculum: Direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard

Incubation: 35 ± 2 °C; ambient air; 16 to 20 hours; 24 hours for oxacillin, methicillin, nafcillin, and vancomycin. Testing at temperatures above 35 °C may not detect MRS.

Minimal QC Recommendations (See Table 3 for acceptable QC ranges.)

Staphylococcus aureus ATCC® 29213
Escherichia coli ATCC® 35218 (for β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations)

Staphylococcus aureus ATCC® BAA-977 and *Staphylococcus aureus* ATCC® BAA-976 (for quality assessment of the clindamycin induction test)

General Comments

(1) Historically, resistance to the penicillinase-stable penicillins (see Glossary I) has been referred to as "methicillin resistance"; thus, the acronyms MRSA (for "methicillin-resistant *S. aureus*") or MRS (for "methicillin-resistant staphylococci") are still commonly used, even though methicillin is no longer the agent of choice for testing or treatment. In this document, resistance to these agents may be referred to using several terms (eg, "MRS," "methicillin resistance," "oxacillin resistance").

(2) For oxacillin-susceptible *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci, results for parenteral and oral cephems, β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations, and carbapenems, if tested, should be reported according to the results generated using routine interpretive criteria. See comment (3) for reporting β-lactam results on oxacillin-resistant strains.

(3) **WARNING:** For oxacillin-resistant *S. aureus* and coagulase-negative staphylococci (MRS), other β-lactam agents, ie, penicillins, β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations, cephems, and carbapenems, may appear active *in vitro* but are not effective clinically. Results for these drugs should be reported as resistant or should not be reported. This is because most cases of documented MRS infections have responded poorly to β-lactam therapy, or because convincing clinical data have yet to be presented that document clinical efficacy for those agents.

(4) Detection of oxacillin resistance: Tests for *mec*A or for the protein expressed by *mec*A, the penicillin-binding protein 2a (PBP 2a, also called PBP2') are the most accurate methods for prediction of resistance to oxacillin and could be used to confirm results for isolates of staphylococci from serious infections. Isolates of staphylococci that are shown to carry the *mec*A gene, or that produce PBP 2a, the *mec*A gene product, should be reported as oxacillin-resistant. Isolates that are not shown to carry *mec*A or do not produce PBP 2a should be reported as oxacillin-susceptible if oxacillin MICs are ≤ 2 μg/mL. Because of the rare occurrence of resistance mechanisms other than *mec*A, isolates that are negative for the *mec*A gene or do not produce PBP 2a, but for which MICs are ≥4 μg/mL, should be reported as oxacillin-resistant. These isolates may test as susceptible to cefoxitin by disk diffusion.

(5) Routine testing of urine isolates of *S. saprophyticus* is not advised, because infections respond to concentrations achieved in urine of antimicrobial agents commonly used to treat acute, uncomplicated urinary tract infections (eg, nitrofurantoin, trimethoprim ± sulfamethoxazole, or a fluoroquinolone).

(6) For some organism/antimicrobial agent combinations, the absence or rare occurrence of resistant strains precludes defining any results categories other than "susceptible." For strains yielding results suggestive of a "nonsusceptible" category, organism identification and antimicrobial susceptibility test results should be confirmed. Subsequently, the isolates should be saved and submitted to a reference laboratory that will confirm results using a CLSI reference dilution method.

(7) **For screening tests for beta-lactamase production, oxacillin resistance, *mec*A-mediated oxacillin resistance using cefoxitin, reduced susceptibility to vancomycin, and inducible clindamycin resistance, refer to Appendix B for *Staphylococcus aureus* group and Appendix C for coagulase-negative staphylococci.**

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 2C. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (μg/mL) Interpretive Standard			Comments
		S	I	R	
PENICILLINS					(7) Penicillin-susceptible staphylococci are also susceptible to other penicillins, β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations, cephems, and carbapenems approved for use by the FDA for staphylococcal infections. Penicillin-resistant, oxacillin-susceptible strains are resistant to penicillinase-labile penicillins but susceptible to other penicillinase-stable penicillins, β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations, relevant cephems, and carbapenems. Oxacillin-resistant staphylococci are resistant to all currently available β-lactam antibiotics. Thus, susceptibility or resistance to a wide array of β-lactam antibiotics may be deduced from testing only penicillin and oxacillin. Routine testing of other penicillins, β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations, cephems, and carbapenems is not advised. See comment (3).
A	Penicillin	≤ 0.12	-	≥ 0.25	(8) Resistant strains of *S. aureus* produce β-lactamase, and the testing of penicillin instead of ampicillin is preferred. Penicillin should be used to test the susceptibility of all staphylococci to all penicillinase-labile penicillins, such as ampicillin, amoxicillin, azlocillin, carbenicillin, mezlocillin, piperacillin, and ticarcillin. A penicillin MIC of ≤ 0.03 μg/mL usually implies lack of β-lactamase production, and MICs of ≥ 0.25 μg/mL should be considered resistant; staphylococci with penicillin MICs between 0.06 to 0.12 μg/mL may or may not produce β-lactamase, and an induced β-lactamase test can clarify these MICs (see M7-A7, Section 14.2). A positive β-lactamase test predicts resistance to penicillin, ampicillin, amoxicillin, carbenicillin, ticarcillin, mezlocillin, and piperacillin. For oxacillin-resistant staphylococci, report as resistant or do not report.
A	Oxacillin	≤ 2 ≤ 0.25	- -	≥ 4 ≥ 0.5	For *S. aureus* and *S. lugdunensis*. For coagulase-negative staphylococci, except *S. lugdunensis*.
	Cefoxitin (for oxacillin)	**≤ 4**	**-**	**≥ 8**	**(9) The results of cefoxitin MIC tests can be used to predict the presence of *mec*A-mediated resistance in *S. aureus* and *S. lugdunensis*. Isolates for which cefoxitin MICs are ≥ 8 μg/mL should be reported as oxacillin resistant. Isolates for which the cefoxitin MICs are ≤ 4 μg/mL should be reported as oxacillin susceptible.** (10) Of the penicillinase-stable penicillins, oxacillin may be tested, and results can be applied to the other penicillinase-stable penicillins, cloxacillin, dicloxacillin, and flucloxacillin. Testing of oxacillin is preferred, since it is more resistant to degradation in storage, and because it is more likely to detect heteroresistant strains. (See **Appendix B** for the oxacillin agar screen test for *S. aureus*.) (11) Interpretive criteria for coagulase-negative staphylococci correlate with the presence or absence of the gene encoding methicillin resistance (*mec*A) for *S. epidermidis*. These interpretive criteria may overcall resistance for other coagulase-negative staphylococci (eg, *S. saprophyticus*). For serious infections with coagulase-negative staphylococci other than *S. epidermidis*, testing for *mec*A or the protein expressed by *mec*A, the penicillin binding protein 2a (PBP 2a, "also known as" PBP 2'), may be appropriate for strains for which the oxacillin MICs are 0.5 to 2 μg/mL. (12) The results of disk diffusion tests using a 30-μg cefoxitin disk and alternate breakpoints (see **Appendixes B and C**) can be used to predict *mec*A-mediated resistance in staphylococci. Compared to MIC tests, the cefoxitin disk test is equivalent in sensitivity and specificity for *S. aureus.* For coagulase-negative staphylococci, the cefoxitin disk test, when compared to oxacillin MIC tests, has equal sensitivity but higher specificity (ie, the cefoxitin disk test is more accurate than the oxacillin MIC test for identifying oxacillin-susceptible strains**). For *S. aureus*, a cefoxitin MIC test and alternate breakpoints have also been shown to predict *mec*A-mediated resistance (see comment (9) and Appendix B).**
O	Ampicillin	≤ 0.25	-	≥ 0.5	(13) Class representative for ampicillin and amoxicillin. (14) For oxacillin-resistant staphylococci, report as resistant or do not report.
O	Methicillin	≤ 8	-	≥ 16	(15) For use with *S. aureus* only.
O	Nafcillin	≤ 2	-	≥ 4	(16) For use with *S. aureus* only.

Table 2C
Staphylococcus spp.
M7-MIC

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2C. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (µg/mL) Interpretive Standard			Comments
		S	I	R	
β-LACTAM/β-LACTAMASE INHIBITOR COMBINATIONS					(17) For oxacillin-resistant staphylococci, report as resistant or do not report.
O	Amoxicillin-clavulanic acid	≤ 4/2	-	≥ 8/4	
O	Ampicillin-sulbactam	≤ 8/4	16/8	≥ 32/16	
O	Piperacillin-tazobactam	≤ 8/4	-	≥ 16/4	
O	Ticarcillin-clavulanic acid	≤ 8/2	-	≥ 16/2	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)					See comment (7). (18) For oxacillin-resistant staphylococci, report as resistant or do not report.
O	Cefamandole	≤ 8	16	≥ 32	
O	Cefazolin	≤ 8	16	≥ 32	
O	Cefepime	≤ 8	16	≥ 32	
O	Cefmetazole	≤ 16	32	≥ 64	
O	Cefonicid	≤ 8	16	≥ 32	
O	Cefoperazone	≤ 16	32	≥ 64	
O	Cefotaxime	≤ 8	16-32	≥ 64	
O	Cefotetan	≤ 16	32	≥ 64	
O	Ceftazidime	≤ 8	16	≥ 32	
O	Ceftizoxime	≤ 8	16-32	≥ 64	
O	Ceftriaxone	≤ 8	16-32	≥ 64	
O	Cefuroxime (parenteral)	≤ 8	16	≥ 32	
O	Cephalothin	≤ 8	16	≥ 32	
O	Moxalactam	≤ 8	16-32	≥ 64	
CEPHEMS (ORAL)					(19) For oxacillin-resistant staphylococci, report as resistant or do not report.
O	Cefaclor	≤ 8	16	≥ 32	
O	Cefdinir	≤ 1	2	≥ 4	
O	Cefpodoxime	≤ 2	4	≥ 8	
O	Cefprozil	≤ 8	16	≥ 32	
O	Cefuroxime (oral)	≤ 4	8-16	≥ 32	
O	Loracarbef	≤ 8	16	≥ 32	
CARBAPENEMS					See comment (7). (20) For oxacillin-resistant staphylococci, report as resistant or do not report.
O	Ertapenem	≤ 2	4	≥ 8	
O	Imipenem	≤ 4	8	≥ 16	
O	Meropenem	≤ 4	8	≥ 16	

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 2C. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (μg/mL) Interpretive Standard S	I	R	Comments
GLYCOPEPTIDES					
B	Vancomycin	≤ 2	4-8	≥ 16	For *S. aureus.* (21) Vancomycin-resistant *S. aureus* (VRSA) strains (MICs ≥ 16 μg/mL) are reliably detected by the broth microdilution reference method. When using other MIC methods that have not been validated to detect VRSA, BHI vancomycin agar screen plates containing 6 μg/mL of vancomycin should be inoculated to enhance the sensitivity of detecting vancomycin-resistant strains. **(See Appendix B.)** (22) Send any staphylococci determined to have an elevated MIC for vancomycin (MIC ≥ 4 μg/mL) to a reference laboratory.
		≤ 4	8-16	≥ 32	For coagulase-negative staphylococci.
Inv.	Teicoplanin	≤ 8	16	≥ 32	
LIPOPEPTIDES					
B	Daptomycin	≤ 1	-	-	See comment (6).
AMINOGLYCOSIDES					
C	Gentamicin	≤ 4	8	≥ 16	
O	Amikacin	≤ 16	32	≥ 64	
O	Kanamycin	≤ 16	32	≥ 64	
O	Netilmicin	≤ 8	16	≥ 32	
O	Tobramycin	≤ 4	8	≥ 16	
MACROLIDES					(23) Not routinely tested and reported against organisms isolated from the urinary tract.
A	Azithromycin or	≤ 2	4	≥ 8	
A	clarithromycin or	≤ 2	4	≥ 8	
A	erythromycin	≤ 0.5	1-4	≥ 8	
O	Dirithromycin	≤ 2	4	≥ 8	
KETOLIDES					
B	Telithromycin	≤ 1	2	≥ 4	
TETRACYCLINES					(24) Organisms that are susceptible to tetracycline are also considered susceptible to doxycycline and minocycline. However, some organisms that are intermediate or resistant to tetracycline may be susceptible to doxycycline or minocycline or both.
B	Tetracycline	≤ 4	8	≥ 16	
B	Doxycycline	≤ 4	8	≥ 16	
O	Minocycline	≤ 4	8	≥ 16	
FLUOROQUINOLONES					(25) *Staphylococcus* spp. may develop resistance during prolonged therapy with quinolones. Therefore, isolates that are initially susceptible may become resistant within three to four days after initiation of therapy. Testing of repeat isolates may be warranted.
C	Ciprofloxacin or	≤ 1	2	≥ 4	
C	levofloxacin or	≤ 1	2	≥ 4	
C	ofloxacin	≤ 1	2	≥ 4	
C	Moxifloxacin	≤ 0.5	1	≥ 2	
U	Lomefloxacin	≤ 2	4	≥ 8	
U	Norfloxacin	≤ 4	8	≥ 16	

Table 2C
Staphylococcus spp.
M7-MIC

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2C. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (μg/mL) Interpretive Standard			Comments
		S	I	R	
FLUOROQUINOLONES (Continued)					
O	Enoxacin	≤ 2	4	≥ 8	(26) FDA approved for *S. saprophyticus* and *S. epidermidis* (not *S. aureus*).
O	Gatifloxacin	≤ 0.5	1	≥ 2	
O	Grepafloxacin	≤ 1	2	≥ 4	
O	Sparfloxacin	≤ 0.5	1	≥ 2	
Inv.	Fleroxacin	≤ 2	4	≥ 8	
NITROFURANTOINS					
U	Nitrofurantoin	≤ 32	64	≥ 128	
LINCOSAMIDES					
A	Clindamycin	≤ 0.5	1-2	≥ 4	(27) Macrolide-resistant isolates of *S. aureus* and coagulase-negative *Staphylococcus* spp. may have constitutive or inducible resistance to clindamycin (methylation of the 23S rRNA encoded by the *erm* gene also referred to as MLS_B [macrolide, lincosamide, and type B streptogramin] resistance) or may be resistant only to macrolides (efflux-mechanism encoded by the *msrA* gene). Inducible clindamycin resistance can be detected using a disk approximation test **(see M2, Table 2C and Appendixes B and C)** by placing a 2-μg clindamycin disk 15 mm away from the edge of a 15-μg erythromycin disk on a standard blood agar plate used for the inoculum purity check**, or by using the combination of erythromycin 4 μg/mL and clindamycin 0.5 μg/mL together in a single well of a broth microdilution panel. The broth microdilution test applies only to isolates that are erythromycin resistant (MICs ≥ 8 μg/mL) and clindamycin susceptible or intermediate (MICs ≤ 2 μg/mL); for these isolates, growth in the well would indicate the presence of inducible clindamycin resistance**. Following incubation, organisms that **do not grow in the broth microdilution well or** do not show flattening of the clindamycin zone should be reported as **tested, ie, susceptible or intermediate to clindamycin**. Organisms that **grow in the broth microdilution well or** show flattening of the clindamycin zone adjacent to the erythromycin disk (referred to as a "D" zone) have inducible clindamycin resistance. Such isolates should be reported as clindamycin-resistant. **Organisms that show hazy growth throughout the zone of inhibition around the clindamycin disk should be reported as clindamycin resistant whether or not they show a D-zone.** A comment that "This isolate is presumed to be resistant based on detection of inducible clindamycin resistance. Clindamycin may still be effective in some patients." may be **included for isolates that show inducible clindamycin resistance.** For quality control/quality assessment recommendations, refer to Table 3 of M2 and **M7 and Appendixes B and C**. See comment (23).
FOLATE PATHWAY INHIBITORS					
A	Trimethoprim-sulfamethoxazole	≤ 2/38	-	≥ 4/76	
U	Sulfonamides	≤ 256	-	≥ 512	(28) Sulfisoxazole can be used to represent any of the currently available sulfonamide preparations.
U	Trimethoprim	≤ 8	-	≥ 16	
PHENICOLS					
C	Chloramphenicol	≤ 8	16	≥ 32	See comment (23).
ANSAMYCINS					
B	Rifampin	≤ 1	2	≥ 4	(29) ***Rx:*** Rifampin should not be used alone for antimicrobial therapy.
STREPTOGRAMINS					
C	Quinupristin-dalfopristin	≤ 1	2	≥ 4	
OXAZOLIDINONES					
B	Linezolid	≤ 4	-	-	See comment (6).

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

This page is intentionally left blank.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 2D. MIC Interpretive Standards (μg/mL) for *Enterococcus* spp.

Testing Conditions	
Medium:	Broth dilution: Cation-adjusted Mueller-Hinton broth (CAMHB); CAMHB supplemented to 50 μg/mL calcium for daptomycin Agar dilution: Mueller-Hinton agar (MHA); agar dilution has not been validated for daptomycin.
Inoculum:	Growth method or direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation:	35 ± 2 °C; ambient air; 16 to 20 hours; 24 hours for vancomycin

Minimal QC Recommendations (See Table 3 for Acceptable QC Ranges.)

Enterococcus faecalis ATCC® 29212

General Comments

(1) **WARNING:** For *Enterococcus* spp., cephalosporins, aminoglycosides (except for high-level resistance screening), clindamycin, and trimethoprim-sulfamethoxazole may appear active *in vitro* but are not effective clinically, and isolates should not be reported as susceptible.

(2) Synergy between ampicillin, penicillin, or vancomycin and an aminoglycoside can be predicted for enterococci by using a high-level aminoglycoside (gentamicin and streptomycin) screening test. Other aminoglycosides need not be tested, because their activities against enterococci are not superior to gentamicin and streptomycin. **Refer to Appendix D for Screening Tests for High-Level Aminoglycoside Resistance (HLAR).**

(3) For some organism/antimicrobial agent combinations, the absence or rare occurrence of resistant strains precludes defining any results categories other than “susceptible.” For strains yielding results suggestive of a “nonsusceptible” category, organism identification and antimicrobial susceptibility test results should be confirmed. Subsequently, the isolates should be saved and submitted to a reference laboratory that will confirm results using a CLSI reference dilution method.

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

© *Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 2D. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (μg/mL) Interpretive Standard			Comments
		S	I	R	
PENICILLINS					
A	Penicillin	≤ 8	-	≥ 16	(4) Ampicillin is the class representative for ampicillin and amoxicillin. Ampicillin results may be used to predict susceptibility to amoxicillin-clavulanic acid, ampicillin-sulbactam, piperacillin, and piperacillin-tazobactam among non-β-lactamase-producing enterococci. Ampicillin susceptibility can be used to predict imipenem susceptibility providing the species is confirmed to be *E. faecalis*. (5) Enterococci susceptible to penicillin are predictably susceptible to ampicillin, amoxicillin, ampicillin-sulbactam, amoxicillin-clavulanate, piperacillin, and piperacillin-tazobactam for non-β-lactamase-producing enterococci. However, enterococci susceptible to ampicillin cannot be assumed to be susceptible to penicillin. If penicillin results are needed, testing of penicillin is required. (6) ***Rx:*** Combination therapy of ampicillin, penicillin, or vancomycin (for susceptible strains), plus an aminoglycoside, is usually indicated for serious enterococcal infections, such as endocarditis, unless high-level resistance to both gentamicin and streptomycin is documented; such combinations are predicted to result in synergistic killing of the enterococcus. (7) Because ampicillin or penicillin resistance among enterococci due to β-lactamase production is not reliably detected using routine dilution methods, a direct, nitrocefin-based β-lactamase test is recommended for blood and cerebrospinal fluid isolates. A positive β-lactamase test predicts resistance to penicillin, as well as amino-, carboxy-, and ureidopenicillins.
A	Ampicillin	≤ 8	-	≥ 16	
GLYCOPEPTIDES					
B	Vancomycin	≤ 4	8-16	≥ 32	(8) When testing vancomycin, plates should be held a full 24 hours for accurate detection of resistance. For isolates with vancomycin MICs of 8-16 μg/mL, perform biochemical tests for identification as listed under the "Vancomycin Resistance" test **found in Appendix D.** See comments (2) and (6).
Inv.	Teicoplanin	≤ 8	16	≥ 32	
LIPOPEPTIDES					
B	Daptomycin	≤ 4	-	-	See comment (3).
TETRACYCLINES					(9) Organisms that are susceptible to tetracycline are also considered susceptible to doxycycline and minocycline. However, some organisms that are intermediate or resistant to tetracycline may be susceptible to doxycycline or minocycline or both.
U	Tetracycline	≤ 4	8	≥ 16	
O	Doxycycline	≤ 4	8	≥ 16	
O	Minocycline	≤ 4	8	≥ 16	
MACROLIDES					
O	Erythromycin	≤ 0.5	1-4	≥ 8	(10) Not routinely tested and reported on isolates from the urinary tract.

Table 2D
Enterococcus spp.
M7-MIC

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2D. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (μg/mL) Interpretive Standard			Comments
		S	I	R	
FLUOROQUINOLONES					
U	Ciprofloxacin	≤ 1	2	≥ 4	
U	Levofloxacin	≤ 2	4	≥ 8	
U	Norfloxacin	≤ 4	8	≥ 16	
O	Gatifloxacin	≤ 2	4	≥ 8	(11) This breakpoint applies to isolates from the urinary tract only.
PHENICOLS					
O	Chloramphenicol	≤ 8	16	≥ 32	See comment (10).
ANSAMYCINS					
O	Rifampin	≤ 1	2	≥ 4	(12) ***Rx:*** Rifampin should not be used alone for antimicrobial therapy.
FOSFOMYCINS					
O	Fosfomycin	≤ 64	128	≥ 256	(13) For use with *E. faecalis* **urinary tract isolates only**. The approved method of MIC susceptibility testing is agar dilution. Agar media should be supplemented with 25 μg/mL of glucose-6-phosphate. Broth dilution testing should not be performed.
NITROFURANTOINS					
U	Nitrofurantoin	≤ 32	64	≥ 128	
STREPTOGRAMINS					
B	Quinupristin-dalfopristin	≤ 1	2	≥ 4	
OXAZOLIDINONES					
B	Linezolid	≤ 2	4	≥ 8	

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

This page is intentionally left blank.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved*.

Table 2E. MIC Interpretive Standards (μg/mL) for *Haemophilus influenzae* and *H. parainfluenzae*

Testing Conditions

Medium: Broth dilution: *Haemophilus* Test Medium (HTM) broth
Inoculum: Direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation: 35 ± 2 °C; ambient air; 20 to 24 hours

Minimal QC Recommendations (See Table 3A for acceptable QC ranges.)

Haemophilus influenzae ATCC® 49247
Haemophilus influenzae ATCC® 49766
Escherichia coli ATCC® 35218 (when testing amoxicillin-clavulanic acid)

General Comments

(1) Only results of testing with ampicillin, one of the third-generation cephalosporins, chloramphenicol, and meropenem should be reported routinely with CSF isolates of *H. influenzae*.

(2) Amoxicillin-clavulanic acid, azithromycin, clarithromycin, cefaclor, cefprozil, loracarbef, cefdinir, cefixime, cefpodoxime, cefuroxime, and telithromycin are oral agents that may be used as empiric therapy for respiratory tract infections due to *Haemophilus* spp. The results of susceptibility tests with these antimicrobial agents are often not useful for management of individual patients. However, susceptibility testing of *Haemophilus* spp. with these compounds may be appropriate for surveillance or epidemiologic studies.

(3) To make *Haemophilus* Test Medium: A fresh hematin stock solution is prepared by dissolving 50 mg of hematin powder in 100 mL of 0.01 N (0.01 mol/L) NaOH with heat and stirring until the powder is dissolved thoroughly. Thirty milliliters of the hematin stock solution is added to 1 L of MHB with 5 g of yeast extract. After autoclaving and cooling, cations are added aseptically, if needed, as in CAMHB, and 3 mL of NAD stock solution (50 mg of NAD dissolved in 10 mL of distilled water; filter sterilized) is also added aseptically. If sulfonamides or trimethoprim are to be tested, 0.2 IU/mL thymidine phosphorylase should also be added to the medium aseptically.

(4) For some organism/antimicrobial agent combinations, the absence or rare occurrence of resistant strains precludes defining any results categories other than "susceptible." For strains yielding results suggestive of a "nonsusceptible" category, organism identification and antimicrobial susceptibility test results should be confirmed. Subsequently, the isolates should be saved and submitted to a reference laboratory that will confirm results using a CLSI reference dilution method.

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (μg/mL) Interpretive Standard			Comments
		S	I	R	
PENICILLINS					
A	Ampicillin	≤ 1	2	≥ 4	(5) The results of ampicillin susceptibility tests should be used to predict the activity of amoxicillin. The majority of isolates of *H. influenzae* that are resistant to ampicillin and amoxicillin produce a TEM-type β-lactamase. In most cases, a direct β-lactamase test can provide a rapid means of detecting ampicillin and amoxicillin resistance. (6) Rare β-lactamase-negative, ampicillin-resistant (BLNAR) strains of *H. influenzae* should be considered resistant to amoxicillin-clavulanic acid, ampicillin-sulbactam, cefaclor, cefamandole, cefetamet, cefonicid, cefprozil, cefuroxime, loracarbef, and piperacillin-tazobactam, despite apparent *in vitro* susceptibility of some BLNAR strains to these agents.

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2E. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (μg/mL) Interpretive Standard			Comments
		S	I	R	
β-LACTAM/β-LACTAMASE INHIBITOR COMBINATIONS					See comment (6).
B	Ampicillin-sulbactam	≤ 2/1	-	≥ 4/2	
C	Amoxicillin-clavulanic acid	≤ 4/2	-	≥ 8/4	
O	Piperacillin-tazobactam	≤ 1/4	-	≥ 2/4	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)					See comment (6).
B	Cefotaxime or	≤ 2	-	-	See comment (4).
B	ceftazidime or	≤ 2	-	-	
B	ceftriaxone	≤ 2	-	-	
B	Cefuroxime (parenteral)	≤ 4	8	≥ 16	
O	Ceftizoxime	≤ 2	-	-	**See comment (4).**
O	Cefonicid	≤ 4	8	≥ 16	
O	Cefamandole	≤ 4	8	≥ 16	
O	Cefepime	≤ 2	-	-	See comment (4).
CEPHEMS (ORAL)					
C	Cefaclor	≤ 8	16	≥ 32	
C	Cefprozil	≤ 8	16	≥ 32	
O	Loracarbef	≤ 8	16	≥ 32	
C	Cefdinir or	≤ 1	-	-	See comment (4).
C	cefixime or	≤ 1	-	-	
C	cefpodoxime	≤ 2	-	-	
C	Cefuroxime (oral)	≤ 4	8	≥ 16	
O	Ceftibuten	≤ 2	-	-	See comment (4).
Inv.	Cefetamet	≤ 4	8	≥ 16	
CARBAPENEMS					
B	Meropenem	≤ 0.5	-	-	See comment (4).
C	Ertapenem or	≤ 0.5	-	-	See comment (4).
C	imipenem	≤ 4	-	-	
MONOBACTAMS					
C	Aztreonam	≤ 2	-	-	See comment (4).
MACROLIDES					
C	Azithromycin	≤ 4	-	-	See comment (4).
C	Clarithromycin	≤ 8	16	≥ 32	
KETOLIDES					
C	Telithromycin	≤ 4	8	≥ 16	
TETRACYCLINES					
C	Tetracycline	≤ 2	4	≥ 8	(7) Organisms that are susceptible to tetracycline are also considered susceptible to doxycycline and minocycline.

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2E
Haemophilus spp.
M7-MIC

Table 2E. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (μg/mL) Interpretive Standard			Comments
		S	I	R	
FLUOROQUINOLONES					
C	Ciprofloxacin or	≤ 1	-	-	See comment (4).
C	levofloxacin or	≤ 2	-	-	
C	lomefloxacin or	≤ 2	-	-	
C	moxifloxacin or	≤ 1	-	-	
C	ofloxacin	≤ 2	-	-	
C	Gemifloxacin	≤ 0.12	-	-	
O	Gatifloxacin	≤ 1	-	-	
O	Sparfloxacin	≤ 0.25	-	-	
O	Grepafloxacin	≤ 0.5	-	-	
O	Trovafloxacin	≤ 1	-	-	
Inv.	Fleroxacin	≤ 2	-	-	
FOLATE PATHWAY INHIBITORS					
A	Trimethoprim-sulfamethoxazole	≤ 0.5/9.5	1/19-2/38	≥ 4/76	
PHENICOLS					
B	Chloramphenicol	≤ 2	4	≥ 8	(8) Not routinely reported on isolates from the urinary tract.
ANSAMYCINS					
C	Rifampin	≤ 1	2	≥ 4	(9) ***Rx:*** **Rifampin should not be used alone for antimicrobial therapy.**

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

This page is intentionally left blank.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 2F. MIC Interpretive Standards (μg/mL) for *Neisseria gonorrhoeae*

Testing Conditions	
Medium:	Agar dilution: GC agar base and 1% defined growth supplement. The use of a cysteine-free supplement is required for agar dilution tests with carbapenems and clavulanate. Cysteine-containing defined growth supplements *do not* significantly alter dilution test results with other drugs.
Inoculum:	Direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation:	36 ± 1 °C (do not exceed 37 °C); 5% CO_2; 20 to 24 hours

Minimal QC Recommendations (See Table 3A for acceptable QC ranges.)

Neisseria gonorrhoeae ATCC® 49226

General Comments

(1) The recommended medium for testing *N. gonorrhoeae* consists of GC agar to which a 1% defined growth supplement (1.1 g L-cysteine, 0.03 g guanine HCL, 3 mg thiamine HCL, 13 mg PABA, 0.01 g B12, 0.1 g cocarboxylase, 0.25 g NAD, 1 g adenine, 10 g L-glutamine, 100 g glucose, and 0.02 g ferric nitrate [in 1 L H_2O]) is added after autoclaving.

(2) For some organism/antimicrobial agent combinations, the absence or rare occurrence of resistant strains precludes defining any results categories other than "susceptible." For strains yielding results suggestive of a "nonsusceptible" category, organism identification and antimicrobial susceptibility test results should be confirmed. Subsequently, the isolates should be saved and submitted to a reference laboratory that will confirm results using a CLSI reference dilution method.

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 2F. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (μg/mL) Interpretive Standard			Comments
		S	I	R	
PENICILLINS					
C	Penicillin	≤ 0.06	0.12-1	≥ 2	(3) A positive β-lactamase test predicts resistance to penicillin, ampicillin, and amoxicillin. (4) A β-lactamase test will detect one form of penicillin resistance in *N. gonorrhoeae* and also may be used to provide epidemiologic information. Strains with chromosomally mediated resistance can be detected only by the disk diffusion method or the agar dilution MIC method.
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)					
C C	Cefotaxime or ceftriaxone	≤ 0.5 ≤ 0.25	- -	- -	See comment (2).
C **C**	Cefoxitin Cefuroxime (parenteral)	≤ 2 ≤ 1	4 2	≥ 8 ≥ 4	
O	Ceftizoxime	≤ 0.5	-	-	
O	Cefmetazole	≤ 2	4	≥ 8	
O	Cefotetan	≤ 2	4	≥ 8	
O	Cefepime	≤ 0.5	-	-	See comment (2).
O	Ceftazidime	≤ 0.5	-	-	See comment (2).
CEPHEMS (ORAL)					
C C	Cefixime or cefpodoxime	≤ 0.25 ≤ 0.5	- -	- -	See comment (2).
Inv.	Cefetamet	≤ 0.5	-	-	See comment (2).
TETRACYCLINES					
C	Tetracycline	≤ 0.25	0.5-1	≥ 2	(5) Organisms that are susceptible to tetracycline are also considered susceptible to doxycycline and minocycline.
FLUOROQUINOLONES					
C C	Ciprofloxacin or ofloxacin	≤ 0.06 ≤ 0.25	0.12-0.5 0.5-1	≥ 1 ≥ 2	
O	Gatifloxacin	≤ 0.125	0.25	≥ 0.5	
O	Enoxacin	≤ 0.5	1	≥ 2	
O	Grepafloxacin	≤ 0.06	0.12-0.5	≥ 1	
O	Lomefloxacin	≤ 0.12	0.25-1	≥ 2	
O	Trovafloxacin	≤ 0.25	-	-	See comment (2).
Inv.	Fleroxacin	≤ 0.25	0.5	≥ 1	
AMINOCYCLITOLS					
C	Spectinomycin	≤ 32	64	≥ 128	

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2F
Neisseria gonorrhoeae
M7-MIC

Table 2G. MIC Interpretive Standards (μg/mL) for *Streptococcus pneumoniae*

Testing Conditions

Medium: Broth dilution: Cation-adjusted Mueller-Hinton broth with lysed horse blood (LHB) (2.5 to 5% v/v)
Inoculum: Direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation: 35 ± 2 °C; ambient air; 20 to 24 hours

Minimal QC Recommendations (See Table 3A for acceptable QC ranges.)

Streptococcus pneumoniae ATCC® 49619

General Comments

(1) Only results of testing with penicillin, vancomycin, and cefotaxime or ceftriaxone or meropenem should be reported routinely for CSF isolates of *S. pneumoniae.*

(2) Instructions for preparation of lysed horse blood are provided in CLSI document M7.

(3) For some organism/antimicrobial agent combinations, the absence or rare occurrence of resistant strains precludes defining any results categories other than "susceptible." For strains yielding results suggestive of a "nonsusceptible" category, organism identification and antimicrobial susceptibility test results should be confirmed. Subsequently, the isolates should be saved and submitted to a reference laboratory that will confirm results using a CLSI reference dilution method.

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (μg/mL) Interpretive Standard			Comments
		S	I	R	
PENICILLINS					See comment (1).
A	Penicillin parenteral (nonmeningitis)	≤ 2	4	≥ 8	**(4) *Rx:* Doses of intravenous penicillin of at least 2 million units every four hours in adults with normal renal function (12 million units per day) can be used to treat nonmeningeal pneumococcal infections due to strains with a penicillin MIC ≤2 μg/mL. Strains with an intermediate MIC of 4 μg/mL may require penicillin doses of 18 to 24 million units per day.** **(5) *Rx:* A nonmeningitis pneumococcal isolate for which the penicillin MIC is ≤ 2 μg/mL can be considered susceptible to ampicillin (parenteral), amoxicillin, amoxicillin-clavulanic acid, ampicillin-sulbactam, cefepime, cefotaxime, and ceftriaxone. A nonmeningitis pneumococcal isolate for which the penicillin MIC is ≤ 0.06 μg/mL can be considered susceptible to ceftizoxime, ertapenem, imipenem, and meropenem. See also comment (9).** **(6) For all isolates other than those from CSF, report interpretations for both meningitis and nonmeningitis.**

© *Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 2G. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (µg/mL) Interpretive Standard			Comments
		S	I	R	
PENICILLINS					
A	**Penicillin parenteral (meningitis)**	**≤ 0.06**	-	**≥ 0.12**	**(7) *Rx:* Use of penicillin in meningitis requires therapy with maximum doses of intravenous penicillin (eg, at least 3 million units every four hours in adults with normal renal function).** **(8) For CSF isolates, report only meningitis interpretations.**
A	**Penicillin (oral penicillin V)**	**≤ 0.06**	**0.12-1**	**≥ 2**	**(9) *Rx:* A nonmeningitis pneumococcal isolate for which the penicillin MIC is ≤ 0.06 µg/mL can be considered susceptible to oral ampicillin, amoxicillin, amoxicillin-clavulanic acid, cefaclor, cefdinir, cefditoren, cefpodoxime, cefprozil, cefuroxime, and loracarbef for approved indications.** **(10) An isolate for which the penicillin MIC is ≥ 0.12 µg/mL may be tested for potential susceptibility to other beta-lactams for which there are interpretive criteria for pneumococci. See also comment (5).**
C C	Amoxicillin (nonmeningitis) Amoxicillin-clavulanic acid (nonmeningitis)	≤ 2 ≤ 2/1	4 4/2	≥ 8 ≥ 8/4	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.) See comment (1).					
B	Cefepime (nonmeningitis)	≤ 1	2	≥ 4	(11) Only report interpretations for nonmeningitis and include the nonmeningitis notation on the report. There is not a US FDA-approved indication for the use of cefepime for meningitis.
B	Cefepime (meningitis)	≤ 0.5	1	≥ 2	
B B	Cefotaxime (meningitis) Ceftriaxone (meningitis)	≤ 0.5 ≤ 0.5	1 1	≥ 2 ≥ 2	(12) For CSF isolates, report only meningitis interpretations. (13) ***Rx*:** Use of cefotaxime or ceftriaxone in meningitis requires therapy with maximum doses.
B B	Cefotaxime (nonmeningitis) Ceftriaxone (nonmeningitis)	≤ 1 ≤ 1	2 2	≥ 4 ≥ 4	(14) For all isolates other than those from CSF, report interpretations for both meningitis and nonmeningitis. (15) ***Rx:*** For cefotaxime, use of interpretive criteria for nonmeningitis requires doses appropriate for serious pneumococcal infections (eg, at least 1 g [adults] or 50 mg/kg [children] every eight hours or more frequently).
C	Cefuroxime (parenteral)	≤ 0.5	1	≥ 2	

Table 2G
Streptococcus pneumoniae
M7-MIC

© *Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 2G. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (μg/mL) Interpretive Standard			Comments
		S	I	R	
CEPHEMS (ORAL)					
O	Cefaclor	≤ 1	2	≥ 4	
O	Cefdinir	≤ 0.5	1	≥ 2	
O	Cefpodoxime	≤ 0.5	1	≥ 2	
O	Cefprozil	≤ 2	4	≥ 8	
O	Cefuroxime (oral)	≤ 1	2	≥ 4	
O	Loracarbef	≤ 2	4	≥ 8	
CARBAPENEMS					See comment (1).
B	Meropenem	≤ 0.25	0.5	≥ 1	
C	Ertapenem	≤ 1	2	≥ 4	
C	Imipenem	≤ 0.12	0.25-0.5	≥ 1	
GLYCOPEPTIDES					See comment (1).
B	Vancomycin	≤ 1	-	-	See comment (3).
MACROLIDES					(16) Susceptibility and resistance to azithromycin, clarithromycin, and dirithromycin can be predicted by using erythromycin. (17) Not routinely reported on isolates from the urinary tract.
A	Erythromycin	≤ 0.25	0.5	≥ 1	
O	Azithromycin	≤ 0.5	1	≥ 2	
O	Clarithromycin	≤ 0.25	0.5	≥ 1	
O	Dirithromycin	≤ 0.5	1	≥ 2	
KETOLIDES					
B	Telithromycin	≤ 1	2	≥ 4	
TETRACYCLINES					
B	Tetracycline	≤ 2	4	≥ 8	(18) Organisms that are susceptible to tetracycline are also considered susceptible to doxycycline and minocycline.
FLUOROQUINOLONES					
B	Gemifloxacin	≤ 0.12	0.25	≥ 0.5	
B	Levofloxacin	≤ 2	4	≥ 8	
B	Moxifloxacin	≤ 1	2	≥ 4	
B	Ofloxacin	≤ 2	4	≥ 8	
O	Gatifloxacin	≤ 1	2	≥ 4	
O	Grepafloxacin	≤ 0.5	1	≥ 2	
O	Sparfloxacin	≤ 0.5	1	≥ 2	
O	Trovafloxacin	≤ 1	2	≥ 4	
FOLATE PATHWAY INHIBITORS					
A	Trimethoprim-sulfamethoxazole	≤ 0.5/9.5	1/19-2/38	≥ 4/76	
PHENICOLS					
C	Chloramphenicol	≤ 4	-	≥ 8	See comment (17).
ANSAMYCINS					
C	Rifampin	≤ 1	2	≥ 4	(19) ***Rx:*** Rifampin should not be used alone for antimicrobial therapy.
LINCOSAMIDES					
B	Clindamycin	≤ 0.25	0.5	≥ 1	See comment (17).
STREPTOGRAMINS					
O	Quinupristin-dalfopristin	≤ 1	2	≥ 4	
OXAZOLIDINONES					
C	Linezolid	≤ 2	-	-	See comment (3).

© *Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

This page is intentionally left blank.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 2H-1. MIC Interpretive Standards (μg/mL) for *Streptococcus* spp. Beta-hemolytic group

Testing Conditions

Medium: Broth dilution: Cation-adjusted Mueller-Hinton broth with lysed horse blood (2.5 to 5% v/v); CAMHB supplemented to 50 μg/mL calcium for daptomycin
Agar dilution: Mueller-Hinton with sheep blood (5% v/v) (when testing a sulfonamide, lysed horse blood should be used); agar dilution has not been validated for daptomycin.
Inoculum: Direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation: 35 ± 2 °C; ambient air; 20 to 24 hours (CO_2 if necessary for growth with agar dilution)

Minimal QC Recommendations (See Table 3A for acceptable QC ranges.)

Streptococcus pneumoniae ATCC® 49619

General Comments

(1) For this table, the beta-hemolytic group includes the large-colony-forming pyogenic strains of streptococci with Group A (*S. pyogenes*), C, or G antigens, and strains with Group B (*S. agalactiae*) antigen. Small-colony-forming beta-hemolytic strains with Group A, C, F, or G antigens (*S. anginosus*, previously termed *"S. milleri"*) are considered part of the viridans group, and interpretive criteria for the viridans group should be used (see Table 2H-2).

(2) Susceptibility testing of penicillins and other β-lactams approved by the FDA for treatment of Group A and Group B streptococci is not necessary for clinical purposes and need not be done routinely, since as with vancomycin, resistant strains have not been recognized. Breakpoints and interpretive criteria are provided for pharmaceutical development, epidemiology, or monitoring for emerging resistance. Any strains found to be nonsusceptible should be referred to a reference laboratory for confirmation.

(3) Interpretive criteria for **beta-hemolytic** streptococci are proposed based on population distributions of various species, pharmacokinetics of the antimicrobial agents, previously published literature, and the clinical experience of certain members of the subcommittee. Systematically collected clinical data were not available for review with many of the compounds in the group.

(4) Instructions for preparation of lysed horse blood are provided in CLSI document M7.

(5) For some organism/antimicrobial agent combinations, the absence or rare occurrence of resistant strains precludes defining any results categories other than "susceptible." For strains yielding results suggestive of a "nonsusceptible" category, organism identification and antimicrobial susceptibility test results should be confirmed. Subsequently, the isolates should be saved and submitted to a reference laboratory that will confirm results using a CLSI reference dilution method.

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (μg/mL) Interpretive Standard			Comments
		S	I	R	
PENICILLINS					(6) A streptococcal isolate that is susceptible to penicillin can be considered susceptible to ampicillin, amoxicillin, amoxicillin-clavulanic acid, ampicillin-sulbactam, cefaclor, cefazolin, cefdinir, cefepime, cefprozil, cefotaxime, ceftibuten (Group A streptococci only), ceftriaxone, cefuroxime, cefpodoxime, ceftizoxime, cephradine, cephalothin, cephapirin, ertapenem, imipenem, loracarbef, and meropenem for approved indications, and need not be tested against those agents.
A A	Penicillin or ampicillin	≤ 0.12 ≤ 0.25	- -	- -	See comment (5). (7) Strains of beta-hemolytic streptococci with penicillin MICs of greater than 0.12 μg/mL or ampicillin MICs of greater than 0.25 μg/mL have not been observed; submit such strains to a reference laboratory.

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2H-1. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (μg/mL) Interpretive Standard			Comments
		S	I	R	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)					See comment (6).
B	Cefepime or	≤ 0.5	-	-	See comment (5).
B	cefotaxime or	≤ 0.5	-	-	
B	ceftriaxone	≤ 0.5	-	-	
CARBAPENEMS					
O	Ertapenem	≤ 1	-	-	See comment (5).
O	Meropenem	≤ 0.5	-	-	See comment (5).
GLYCOPEPTIDES					
B	Vancomycin	≤ 1	-	-	See comment (5).
LIPOPEPTIDES					
C	Daptomycin	≤ 1	-	-	See comment (5).
MACROLIDES					(8) Susceptibility and resistance to azithromycin, clarithromycin, and dirithromycin can be predicted by testing erythromycin. (9) Not routinely reported on isolates from the urinary tract.
A	Erythromycin	≤ 0.25	0.5	≥ 1	(10) ***Rx:*** Recommendations for intrapartum prophylaxis for Group B streptococci are penicillin or ampicillin. While cefazolin is recommended for penicillin-allergic women at low risk for anaphylaxis, those at high risk for anaphylaxis may receive clindamycin or erythromycin. Group B streptococci are susceptible to ampicillin, penicillin, and cefazolin, but may be resistant to clindamycin and/or erythromycin. When a Group B streptococcus is isolated from a pregnant woman with severe penicillin allergy (high risk for anaphylaxis), clindamycin and erythromycin should be tested and reported.
O	Azithromycin	≤ 0.5	1	≥ 2	
O	Clarithromycin	≤ 0.25	0.5	≥ 1	
O	Dirithromycin	≤ 0.5	1	≥ 2	
TETRACYCLINES					
O	Tetracycline	≤ 2	4	≥ 8	(11) Organisms that are susceptible to tetracycline are also considered susceptible to doxycycline and minocycline.

Table 2H-1
Streptococcus spp.
Beta-hemolytic group
M7-MIC

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2H-1. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (µg/mL) Interpretive Standard			Comments
		S	I	R	
FLUOROQUINOLONES					
C	Levofloxacin	≤ 2	4	≥ 8	
C	Ofloxacin	≤ 2	4	≥ 8	
O	Gatifloxacin	≤ 1	2	≥ 4	
O	Grepafloxacin	≤ 0.5	1	≥ 2	
O	Trovafloxacin	≤ 1	2	≥ 4	
PHENICOLS					
C	Chloramphenicol	≤ 4	8	≥ 16	See comment (9).
LINCOSAMIDES					
A	Clindamycin	≤ 0.25	0.5	≥ 1	See comments (9) and (10). (12) Macrolide-resistant isolates of beta-hemolytic streptococci may have constitutive or inducible resistance to clindamycin (methylation of the 23S rRNA encoded by an *erm* gene also referred to as MLS_B [macrolide, lincosamide, and type B streptogramin] resistance) or may be resistant only to macrolides (efflux mechanism encoded by a *mef* gene). Inducible clindamycin resistance can be detected using a disk approximation test by placing a 2-µg clindamycin disk 12 mm from the edge of a 15-µg erythromycin disk as part of the normal disk diffusion procedure. Following incubation, organisms that do not show flattening of the clindamycin zone should be reported as clindamycin-susceptible. Organisms that show flattening of the clindamycin zone adjacent to the erythromycin disk (referred to as a "D" zone) have inducible clindamycin resistance. Such isolates should be reported as clindamycin-resistant. A comment that "This isolate is presumed to be resistant based on detection of inducible clindamycin resistance. Clindamycin may still be effective in some patients." may be included.
STREPTOGRAMINS					
C	Quinupristin-dalfopristin	≤ 1	2	≥ 4	(13) Report against *S. pyogenes*.
OXAZOLIDINONES					
C	Linezolid	≤ 2	-	-	See comment (5).

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

This page is intentionally left blank.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved*.

Table 2H-2. MIC Interpretive Standards (μg/mL) for *Streptococcus* spp. Viridans group

Testing Conditions

Medium: Broth dilution: Cation-adjusted Mueller-Hinton broth with lysed horse blood (2.5 to 5% v/v); CAMHB supplemented to 50 μg/mL calcium for daptomycin
Agar dilution: Mueller-Hinton with sheep blood (5% v/v) (when testing a sulfonamide, lysed horse blood should be used); agar dilution has not been validated for daptomycin.

Inoculum: Direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard

Incubation: 35 ± 2 °C; ambient air; 20 to 24 hours (CO_2 if necessary for growth with agar dilution)

Minimal QC Recommendations (See Table 3A for acceptable QC ranges.)

Streptococcus pneumoniae ATCC® 49619

General Comments

(1) Small-colony-forming beta-hemolytic strains with Group A, C, F, or G antigens (*S. anginosus*, previously termed *"S. milleri"*) are considered part of the viridans group, and interpretive criteria for the viridans group should be used.

(2) Interpretive criteria for **viridans** streptococci are proposed based on population distributions of various species, pharmacokinetics of the antimicrobial agents, previously published literature, and the clinical experience of certain members of the subcommittee. Systematically collected clinical data were not available for review with many of the compounds in the group.

(3) Instructions for preparation of lysed horse blood are provided in CLSI document M7.

(4) For some organism/antimicrobial agent combinations, the absence or rare occurrence of resistant strains precludes defining any results categories other than "susceptible." For strains yielding results suggestive of a "nonsusceptible" category, organism identification and antimicrobial susceptibility test results should be confirmed. Subsequently, the isolates should be saved and submitted to a reference laboratory that will confirm results using a CLSI reference dilution method.

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (μg/mL) Interpretive Standard			Comments
		S	I	R	
PENICILLINS					(5) A streptococcal isolate that is susceptible to penicillin can be considered susceptible to ampicillin, amoxicillin, amoxicillin-clavulanic acid, ampicillin-sulbactam, cefaclor, cefazolin, cefdinir, cefepime, cefprozil, cefotaxime, ceftibuten (Group A streptococci only), ceftriaxone, cefuroxime, cefpodoxime, ceftizoxime, cephradine, cephalothin, cephapirin, ertapenem, imipenem, loracarbef, and meropenem for approved indications, and need not be tested against those agents.
A	Penicillin	≤ 0.12	0.25-2	≥ 4	(6) ***Rx:*** Penicillin- or ampicillin-intermediate isolates may require combined therapy with an aminoglycoside for bactericidal action.
A	Ampicillin	≤ 0.25	0.5-4	≥ 8	

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

© Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2H-2. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (μg/mL) Interpretive Standard			Comments
		S	I	R	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)					See comment (5).
B	Cefepime	≤ 1	2	≥ 4	See comment (4).
B	Cefotaxime	≤ 1	2	≥ 4	
B	Ceftriaxone	≤ 1	2	≥ 4	
CARBAPENEMS					
O	Ertapenem	≤ 1	-	-	See comment (4).
O	Meropenem	≤ 0.5	-	-	See comment (4).
GLYCOPEPTIDES					
B	Vancomycin	≤ 1	-	-	See comment (4).
LIPOPEPTIDES					
O	Daptomycin	≤ 1	-	-	See comment (4).
MACROLIDES					(7) Susceptibility and resistance to azithromycin, clarithromycin, and dirithromycin can be predicted by testing erythromycin. (8) Not routinely reported on isolates from the urinary tract.
C	Erythromycin	≤ 0.25	0.5	≥ 1	
O	Azithromycin	≤ 0.5	1	≥ 2	
O	Clarithromycin	≤ 0.25	0.5	≥ 1	
O	Dirithromycin	≤ 0.5	1	≥ 2	
TETRACYCLINES					
O	Tetracycline	≤ 2	4	≥ 8	(9) Organisms that are susceptible to tetracycline are also considered susceptible to doxycycline and minocycline.
FLUOROQUINOLONES					
O	Levofloxacin	≤ 2	4	≥ 8	
C	Ofloxacin	≤ 2	4	≥ 8	
O	Gatifloxacin	≤ 1	2	≥ 4	
O	Grepafloxacin	≤ 0.5	1	≥ 2	
O	Trovafloxacin	≤ 1	2	≥ 4	
PHENICOLS					
B	Chloramphenicol	≤ 4	8	≥ 16	See comment (8).
LINCOSAMIDES					
C	Clindamycin	≤ 0.25	0.5	≥ 1	See comment (8).
STREPTOGRAMINS					
O	Quinupristin-dalfopristin	≤ 1	2	≥ 4	
OXAZOLIDINONES					
C	Linezolid	≤ 2	-	-	See comment (4).

Table 2H-2
Streptococcus spp.
Viridans group
M7-MIC

Table 2I. MIC Interpretive Standards (μg/mL) for *Vibrio cholerae*

Testing Conditions

Medium: Broth dilution: Cation-adjusted Mueller-Hinton broth (CAMHB)
Agar dilution: Mueller-Hinton agar (MHA)
Inoculum: Growth method or direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation: 35 ± 2 °C; ambient air; 16 to 20 hours

Minimal QC Recommendations (See Table 3 for acceptable QC ranges.)

Escherichia coli ATCC® 25922

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (μg/mL) Interpretive Standard			Comments
		S	I	R	
PENICILLINS					
A	Ampicillin	≤ 8	16	≥ 32	(1) Class representative for ampicillin and amoxicillin.
TETRACYCLINES					
C	Tetracycline	≤ 4	8	≥ 16	(2) Tetracycline is the representative for all tetracyclines, and the results can be applied to doxycycline.
O	Doxycycline	≤ 4	8	≥ 16	
FOLATE PATHWAY INHIBITORS					
B	Trimethoprim-sulfamethoxazole	≤ 2/38	-	≥ 4/76	
C	Sulfonamides	≤ 256	-	≥ 512	(3) Sulfisoxazole can be used to represent any of the currently available sulfonamide preparations.
PHENICOLS					
C	Chloramphenicol	≤ 8	16	≥ 32	(4) Not routinely reported on isolates from the urinary tract.

© *Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 2J. MIC Interpretive Standards (μg/mL) for *Helicobacter pylori*

Testing Conditions

Medium: Agar dilution: Mueller-Hinton agar (MHA) and aged (≥ 2 weeks old) sheep blood (5% v/v)

Inoculum: A saline suspension equivalent to a 2.0 McFarland standard (containing 1 x 10^7 to 1 x 10^8 CFU/mL), to be prepared from a 72-hour-old subculture from a blood agar plate. The inoculum (1 to 3 μL per spot) is replicated directly onto the antimicrobial agent-containing agar dilution plates.

Incubation: 35 ± 2 °C; three days; microaerobic atmosphere produced by a gas-generating system suitable for campylobacters.

Minimal QC Recommendations (See Table 3A for acceptable QC ranges.)

Helicobacter pylori ATCC® 43504

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (μg/mL) Interpretive Standard			Comments
		S	I	R	
MACROLIDES					
A	Clarithromycin	≤ 0.25	0.5	≥ 1.0	(1) These breakpoints presume that clarithromycin will be used in an FDA-approved regimen that includes a proton-pump inhibitor or an H_2 antagonist (these treatments include omeprazole, lansoprazole, or ranitidine bismuth citrate).

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2K. MIC Interpretive Standards (μg/mL) for Potential Agents of Bioterrorism: *Bacillus anthracis, Yersinia pestis, Burkholderia mallei*, *Burkholderia pseudomallei*, *Francisella tularensis,* and *Brucella* spp.

Testing Conditions	
Medium:	Broth dilution: unsupplemented Brucella broth pH adjusted to **7.1 ± 0.1** for *Brucella* spp.; cation-adjusted Mueller-Hinton broth (CAMHB) + 2% defined growth supplement for *F. tularensis;* CAMHB for all other organisms
Inoculum:	Growth method or direct colony suspension in CAMHB, equivalent to a 0.5 McFarland standard; for *F. tularensis,* prepare inoculum as a direct colony suspension from a chocolate agar plate
Incubation:	35 ± 2 °C; ambient air; 16 to 20 hours; for *Y. pestis,* incubate 24 hours and if unacceptable growth in the control well reincubate an additional 24 hours; for *F. tularensis* and *Brucella* spp., incubate 48 hours **(see comment 8)**

Minimal QC Recommendations (See Table 3 **(CAMHB), Table 3C (CAMHB + 2% defined growth supplement), and Table 3D (Brucella-broth)** for acceptable QC ranges.)

Escherichia coli ATCC® 25922 (all organisms)
Escherichia coli ATCC® 35218 (for amoxicillin-clavulanic acid and *B. pseudomallei*)
Staphylococcus aureus ATCC® 29213 (for *B. anthracis* and *F. tularensis*)
Pseudomonas aeruginosa ATCC® 27853 (for *B. mallei/pseudomallei* and *F. tularensis*)
Streptococcus pneumoniae ATCC® 49619 (for *Brucella* spp. only)

General Comments

(1) **Extreme Caution:** Notify public health officials of all isolates presumptively identified as *B. anthracis, Y. pestis, B. mallei, B. pseudomallei,* or *F. tularensis*. Confirmation of isolates of these bacteria may require specialized testing only available in reference or public health laboratories.
(2) Recommended precautions: Use biosafety Level 2 (BSL2) practices, containment equipment, and facilities for activities using clinical materials and diagnostic quantities of infectious cultures. Use biosafety Level 3 (BSL3) practices, containment equipment, and facilities for work involving production quantities or concentrations of cultures, and for activities with a high potential for aerosol production. If BSL2 or BSL3 facilities are not available, forward isolates to a reference or public health laboratory with a minimum of BSL2 facilities for susceptibility testing.
(3) Interpretive criteria are based on microorganism MIC population distributions, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of the antimicrobial agents, and/or animal model data.
(4) Test method and interpretive criteria for *B. anthracis* do not apply to other *Bacillus* spp.
(5) **WARNING:** For *Y. pestis*, studies have demonstrated that although β-lactam antimicrobial agents may appear active *in vitro*, they lack efficacy in animal models of infection. *Y. pestis* should be reported as resistant to these antimicrobial agents. ***Rx:*** Retrospective clinical data suggest that β-lactam antimicrobial agents are not effective clinically.
(6) The recommended medium for testing *F. tularensis* consists of CAMHB to which a 2% defined growth supplement (25.9 g L-cysteine HCL, 1.1 g L-cystine, 1 g adenine, 0.03 g guanine HCL, 0.01 g vitamin B_{12}, 0.1 g cocarboxylase, 0.25 g NAD, 10 g L-glutamine, 0.02 g ferric nitrate, 100 g glucose, 3 mg thiamine HCL, and 13 mg p-aminobenzoic acid [in 1 L H_2O]) is added after autoclaving. The pH of the medium should be adjusted to **7.1 ± 0.1.**
(7) For some organism/antimicrobial agent combinations, the absence or rare occurrence of resistant strains precludes defining any results categories other than "susceptible." For strains yielding results suggestive of a “nonsusceptible” category, organism identification and antimicrobial susceptibility test results should be confirmed. Subsequently, the isolates should be saved and submitted to a reference laboratory that will confirm results using a CLSI reference dilution method.
(8) Incubation in **5%** CO_2 may be required for growth of some strains of *Brucella* spp., especially *B. abortus*. Incubation of broth in CO_2 may increase the MIC of aminoglycosides and decrease the MIC of tetracyclines, usually by one doubling dilution.

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

© Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2K. (Continued)

Organism Group	Antimicrobial Agent	MIC (μg/mL) Interpretive Standard			Comments
		S	I	R	
PENICILLINS					
B. anthracis	Penicillin	≤ 0.12	-	≥ 0.25	(9) Class representative for amoxicillin. (10) *B. anthracis* strains may contain inducible β-lactamases. *In vitro* penicillinase induction studies suggest that penicillin MICs may increase during therapy. This is supported by reduced response rates to penicillin in animal treatment studies of *B. anthracis* infection. However, β-lactamase testing of clinical isolates of *B. anthracis* is unreliable and should not be performed. If MIC susceptibility testing using CLSI methods indicates that *B. anthracis* isolates are susceptible to penicillin, amoxicillin may still be considered for prophylactic use in children and pregnant women. (References: *MMWR* 21 October 2001 and websites: www.cdc.gov or www.bt.cdc.gov/agent/anthrax/exposure/index.asp)
β-LACTAM/β-LACTAMASE INHIBITOR COMBINATIONS					
B. pseudomallei	Amoxicillin-clavulanic acid	≤ 8/4	16/8	≥ 32/16	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)					
B. mallei *B. pseudomallei*	Ceftazidime	≤ 8	16	≥ 32	
CARBAPENEMS					
B. mallei *B. pseudomallei*	Imipenem	≤ 4	8	≥ 16	
AMINOGLYCOSIDES					
Y. pestis	Gentamicin	≤ 4	8	≥ 16	
	Streptomycin	≤ 4	8	≥ 16	
F. tularensis	Gentamicin	≤ 4	-	-	See comment (7).
Brucella spp.	Streptomycin	≤ 8	-	-	See comment (7). See comment (8). (11) The streptomycin-susceptible breakpoint is ≤16 μg/mL when the panel is incubated in CO_2 and ≤ 8 μg/mL when incubated in air.
TETRACYCLINES					(12) Organisms that are susceptible to tetracycline are also considered susceptible to doxycycline. See comments (7) and (8).
B. anthracis *Brucella* spp.	Tetracycline	≤ 1.0	-	-	
	Doxycycline	≤ 1.0	-	-	
B. mallei	Tetracycline	≤ 4	8	≥ 16	
B. pseudomallei *Y. pestis*	Doxycycline	≤ 4	8	≥ 16	
F. tularensis	Tetracycline	≤ 4	-	-	See comment (7).
	Doxycycline	≤ 4	-	-	
FLUOROQUINOLONES					
B. anthracis	Ciprofloxacin	≤ 0.25	-	-	See comment (7).
	Levofloxacin	**≤ 0.25**	**-**	**-**	**See comment (7).**
Y. pestis	Ciprofloxacin	**≤ 0.25**	**-**	**-**	**See comment (7).**
	Levofloxacin	**≤ 0.25**	**-**	**-**	**See comment (7).**
F. tularensis	Ciprofloxacin	≤ 0.5	-	-	See comment (7).
	Levofloxacin	≤ 0.5	-	-	See comment (7).
FOLATE PATHWAY INHIBITORS					
B. pseudomallei *Y. pestis*	Trimethoprim-sulfamethoxazole	≤ 2/38	-	≥ 4/76	
Brucella spp.	Trimethoprim-sulfamethoxazole	≤ 2/38	-	-	See comment (7).
PHENICOLS					
Y. pestis	Chloramphenicol	≤ 8	16	≥ 32	
F. tularensis	Chloramphenicol	≤ 8	-	-	See comment (7).

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2L. MIC Interpretive Standards (μg/mL) for *Neisseria meningitidis*

Testing Conditions	
Medium:	Broth microdilution: Cation-adjusted Mueller-Hinton broth (CAMHB) supplemented with 2.5 to 5% lysed horse blood. Agar dilution: Mueller-Hinton agar supplemented with 5% defibrinated sheep blood.
Inoculum:	Direct colony suspension from a 20 to 24 hour growth from chocolate agar incubated at 35 °C; 5% CO_2; equivalent to a 0.5 McFarland standard. Colonies grown on sheep blood agar may be used for inoculum preparation. However, the 0.5 McFarland suspension obtained from sheep blood agar will contain approximately 50% fewer CFU/mL. This must be taken into account when preparing the final dilution prior to panel inoculation, as guided by colony counts.
Incubation:	35 ± 2 °C; 5% CO_2; 20 to 24 hours

Minimal QC Recommendations (See Tables 3 and 3A for acceptable QC ranges.)

Streptococcus pneumoniae ATCC® 49619 incubated either in ambient air or 5% CO_2, except that azithromycin QC tests must be incubated in ambient air.
E. coli ATCC® 25922 (incubated either in ambient air or 5% CO_2) should be used for ciprofloxacin, nalidixic acid, minocycline, and sulfisoxazole.

General Comments

(1) Recommended precautions: Biosafety Level 2 (BSL2) practices are recommended for this organism. Whenever possible, procedures likely to generate aerosols should be performed within a biological safety cabinet.

(2) Interpretive criteria are based upon population distributions of MICs of various agents, pharmacokinetics of the agents, previously published literature, and the clinical experience of certain members of the subcommittee. Systematically collected clinical data were not available to review with many of the antimicrobial agents in this table.

(3) For some organism/antimicrobial agent combinations, the absence or rare occurrence of resistant strains precludes defining any results categories other than “susceptible.” For strains yielding results suggestive of a “nonsusceptible” category, organism identification and antimicrobial susceptibility test results should be confirmed. Subsequently, the isolates should be saved and submitted to a reference laboratory that will confirm results using a CLSI reference dilution method.

(4) With azithromycin, breakpoints were developed initially using MICs determined by incubation in ambient air for the pharmacodynamic calculations.

(5) Instructions for preparation of lysed horse blood are provided in CLSI document M7.

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2L. (Continued)

Test/Report Group	Antimicrobial Agent	MIC (μg/mL) Interpretive Standard			Comments
		S	I	R	
PENICILLINS					
C	Penicillin	≤ 0.06	0.12-0.25	≥ 0.5	
C	Ampicillin	≤ 0.12	0.25-1	≥ 2	
CEPHEMS (PARENTERAL) (Including cephalosporins I, II, III, and IV. Please refer to Glossary I.)					
C	Cefotaxime or	≤ 0.12	-	-	See comment (3).
C	ceftriaxone	≤ 0.12	-	-	
CARBAPENEMS					
C	Meropenem	≤ 0.25	-	-	See comment (3).
MACROLIDES					
C	Azithromycin	≤ 2	-	-	See comments (3) and (4). (6) May be appropriate only for prophylaxis of meningococcal case contacts. These breakpoints do not apply to therapy of patients with invasive meningococcal disease.
TETRACYCLINES					
C	Minocycline	≤ 2	-	-	See comments (3) and (6).
FLUOROQUINOLONES					
C	Ciprofloxacin	≤ 0.03	0.06	≥ 0.12	See comment (6). (7) For surveillance purposes, a nalidixic acid MIC ≥8 μg/mL may correlate with diminished fluoroquinolone susceptibility.
C	Levofloxacin	≤ 0.03	0.06	≥ 0.12	
FOLATE PATHWAY INHIBITORS					
C	Sulfisoxazole	≤ 2	4	≥ 8	See comment (6).
C	Trimethoprim-sulfamethoxazole	≤ 0.12/2.4	0.25/4.75	≥ 0.5/9.5	
PHENICOLS					
C	Chloramphenicol	≤ 2	4	≥ 8	(8) Not routinely reported on isolates from the urinary tract.
ANSAMYCINS					
C	Rifampin	≤ 0.5	1	≥ 2	See comment (6).

© Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 2L
Neisseria meningitidis
M7-MIC

Table 3. Acceptable Limits for Quality Control Strains Used to Monitor Accuracy of Minimal Inhibitory Concentrations (MICs) (μg/mL) of Nonfastidious Organisms (Using Mueller-Hinton Medium [Cation-Adjusted if Broth] Without Blood or Other Nutritional Supplements)

Antimicrobial Agent	*Staphylococcus aureus* ATCC® 29213[a]	*Enterococcus faecalis* ATCC® 29212	*Escherichia coli* ATCC® 25922	*Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853	*Escherichia coli* ATCC® 35218[b]
Amikacin	1-4	64-256	0.5-4	1-4	-
Amoxicillin-clavulanic acid	0.12/0.06-0.5/0.25	0.25/0.12-1.0/0.5	2/1-8/4	-	4/2-16/8
Ampicillin	0.5-2	0.5-2	2-8	-	-
Ampicillin-sulbactam	-	-	2/1-8/4	-	8/4-32/16
Azithromycin	0.5-2	-	-	-	-
Azlocillin	2-8	1-4	8-32	2-8	-
Aztreonam	-	-	0.06-0.25	2-8	-
Carbenicillin	2-8	16-64	4-16	16-64	-
Cefaclor	1-4	-	1-4	-	-
Cefamandole	0.25-1	-	0.25-1	-	-
Cefazolin	0.25-1	-	1-4	-	-
Cefdinir	0.12-0.5	-	0.12-0.5	-	-
Cefditoren	0.25-2	-	0.12-1	-	-
Cefepime	1-4	-	0.015-0.12	1-8	-
Cefetamet	-	-	0.25-1	-	-
Cefixime	8-32	-	0.25-1	-	-
Cefmetazole	0.5-2	-	0.25-1	> 32	-
Cefonicid	1-4	-	0.25-1	-	-
Cefoperazone	1-4	-	0.12-0.5	2-8	-
Cefotaxime	1-4	-	0.03-0.12	8-32	-
Cefotetan	4-16	-	0.06-0.25	-	-
Cefoxitin	1-4	-	2-8	-	-
Cefpodoxime	1-8	-	0.25-1	-	-
Cefprozil	0.25-1	-	1-4	-	-
Ceftaroline	0.12-0.5	-	0.03-0.12	-	-
Ceftazidime	4-16	-	0.06-0.5	1-4	-
Ceftibuten	-	-	0.12-0.5	-	-
Ceftizoxime	2-8	-	0.03-0.12	16-64	-
Ceftobiprole	0.25-1	0.06-0.5	0.03-0.12	1-4	-
Ceftriaxone	1-8	-	0.03-0.12	8-64	-
Cefuroxime	0.5-2	-	2-8	-	-
Cephalothin	0.12-0.5	-	4-16	-	-
Chloramphenicol	2-16	4-16	2-8	-	-
Cinoxacin	-	-	2-8	-	-
Ciprofloxacin[c]	0.12-0.5	0.25-2	0.004-0.015	0.25-1	-
Clarithromycin	0.12-0.5	-	-	-	-
Clinafloxacin	0.008-0.06	0.03-0.25	0.002-0.015	0.06-0.5	-
Clindamycin[d]	0.06-0.25	4-16	-	-	-
Colistin	-	-	0.25-1	0.25-2	-
Dalbavancin[e]	0.03-0.12	0.03-0.12	-	-	-
Daptomycin[f]	0.25-1	1-4	-	-	-
Dirithromycin	1-4	-	-	-	-
Doripenem	0.015-0.06	1-4	0.015-0.06	0.12-0.5	-
Doxycycline	0.12-0.5	2-8	0.5-2	-	-
Enoxacin	0.5-2	2-16	0.06-0.25	2-8	-
Ertapenem	0.06-0.25	4-16	0.004-0.015	2-8	-
Erythromycin[d]	0.25-1	1-4	-	-	-
Faropenem	0.03-0.12	-	0.25-1	-	-
Fleroxacin	0.25-1	2-8	0.03-0.12	1-4	-
Fosfomycin[g]	0.5-4	32-128	0.5-2	2-8	-
Garenoxacin	0.004-0.03	0.03-0.25	0.004-0.03	0.5-2	-
Gatifloxacin	0.03-0.12	0.12-1.0	0.008-0.03	0.5-2	-
Gemifloxacin	0.008-0.03	0.015-0.12	0.004-0.015	0.25-1	-
Gentamicin[h]	0.12-1	4-16	0.25-1	0.5-2	-
Grepafloxacin	0.03-0.12	0.12-0.5	0.004-0.03	0.25-2.0	-
Iclaprim	0.06-0.25	0.004-0.03	1-4	-	-
Imipenem	0.015-0.06	0.5-2	0.06-0.25	1-4	-
Kanamycin	1-4	16-64	1-4	-	-
Levofloxacin	0.06-0.5	0.25-2	0.008-0.06	0.5-4	-
Linezolid	1-4	1-4	-	-	-
Lomefloxacin	0.25-2	2-8	0.03-0.12	1-4	-

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 3. (Continued)

Antimicrobial Agent	*Staphylococcus aureus* ATCC® 29213[a]	*Enterococcus faecalis* ATCC® 29212	*Escherichia coli* ATCC® 25922	*Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853	*Escherichia coli* ATCC® 35218[b]
Loracarbef	0.5-2	-	0.5-2	>8	-
Mecillinam	-	-	0.03-0.25[i]	-	-
Meropenem	0.03-0.12	2-8	0.008-0.06	0.25-1	-
Methicillin	0.5-2	>16	-	-	-
Mezlocillin	1-4	1-4	2-8	8-32	-
Minocycline[c]	0.06-0.5	1-4	0.25-1	-	-
Moxalactam	4-16	-	0.12-0.5	8-32	-
Moxifloxacin	0.015-0.12	0.06-0.5	0.008-0.06	1-8	-
Nafcillin	0.12-0.5	2-8	-	-	-
Nalidixic acid[c]	-	-	1-4	-	-
Netilmicin	≤0.25	4-16	≤ 0.5-1	0.5-8	-
Nitrofurantoin	8-32	4-16	4-16	-	-
Norfloxacin	0.5-2	2-8	0.03-0.12	1-4	-
Ofloxacin	0.12-1	1-4	0.015-0.12	1-8	-
Oritavancin[e]	**0.015-0.12**	**0.008-0.03**	-	-	-
Oxacillin	0.12-0.5	8-32	-	-	-
Penicillin	0.25-2	1-4	-	-	-
Piperacillin	1-4	1-4	1-4	1-8	-
Piperacillin-tazobactam	0.25/4-2/4	1/4-4/4	1/4-4/4	1/4-8/4	0.5/4-2/4
Polymyxin B	-	-	0.25-2	0.25-2	-
Quinupristin-dalfopristin	0.25-1	2-8	-	-	-
Rifampin	0.004-0.015	0.5-4	4-16	16-64	-
Sparfloxacin	0.03-0.12	0.12-0.5	0.004-0.015	0.5-2	-
Sulfisoxazole[c,j]	32-128	32-128	8-32	-	-
Teicoplanin	0.25-1	0.06-0.25	-	-	-
Telavancin	0.12-1	0.12-0.5	-	-	-
Telithromycin	0.06-0.25	0.015-0.12	-	-	-
Tetracycline	0.12-1	8-32	0.5-2	8-32	-
Ticarcillin	2-8	16-64	4-16	8-32	-
Ticarcillin-clavulanic acid	0.5/2-2/2	16/2-64/2	4/2-16/2	8/2-32/2	8/2-32/2[k]
Tigecycline[l]	0.03-0.25	0.03-0.12	0.03-0.25	-	-
Tobramycin	0.12-1	8-32	0.25-1	0.25-1	-
Trimethoprim[j]	1-4	0.12-0.5	0.5-2	>64	-
Trimethoprim-sulfamethoxazole	≤ 0.5/9.5	≤ 0.5/9.5	≤ 0.5/9.5	8/152-32/608	-
Trospectomycin	2-16	2-8	8-32	-	-
Trovafloxacin	0.008-0.03	0.06-0.25	0.004-0.015	0.25-2	-
Vancomycin[m]	0.5-2	1-4	-	-	-

NOTE 1: These MICs were obtained in several reference laboratories by broth microdilution. If four or fewer concentrations are tested, quality control may be more difficult.

NOTE 2: Information in boldface type is considered tentative for one year.

NOTE 3: For four-dilution ranges, results at the extremes of the acceptable range(s) should be suspect. Verify control validity with data from other control strains.

Footnotes

a. ATCC is a registered trademark of the American Type Culture Collection.

b. Because this strain may lose its plasmid, careful organism maintenance is required; refer to M7-A7, Section 16.4.

c. Quality control limits for *E. coli* ATCC® 25922 with ciprofloxacin, nalidixic acid, minocycline, and sulfisoxazole when tested in CAMHB with 2.5 to 5% lysed horse blood incubated either in ambient air or 5% CO_2 are the same as those listed in Table 3.

d. **When the erythromycin/clindamycin combination well for detection of inducible clindamycin resistance is used, *S. aureus* ATCC® BAA-977 (containing inducible *erm*A-mediated resistance) and *S. aureus* ATCC® 29213 or *S. aureus* ATCC® BAA-976 (containing *msr*A-mediated macrolide-only efflux) are recommended for quality control purposes. *S. aureus* ATCC® BAA-977 should demonstrate inducible clindamycin resistance (ie, growth in the well), while *S. aureus* ATCC® 29213 and *S. aureus* ATCC® BAA-976 should not demonstrate inducible clindamycin resistance (ie, no growth in the well).**

e. QC ranges reflect MICs obtained when cation-adjusted Mueller-Hinton broth is supplemented with 0.002% polysorbate 80.

f. QC ranges reflect MICs obtained when Mueller-Hinton broth is supplemented with calcium to a final concentration of 50 μg/mL. Agar dilution has not been validated for daptomycin.

g. The approved MIC susceptibility testing method is agar dilution. Agar media should be supplemented with 25 μg/mL of glucose-6-phosphate. Broth dilution should not be performed.

h. For control organisms for gentamicin and streptomycin high-level aminoglycoside screen tests for enterococci, see **Appendix D.**

i. This test should be performed by agar dilution only.

j. Very medium-dependent, especially with enterococci.

k. The quality control limits for *E. coli* ATCC® 35218 when using *Haemophilus* Test Medium (HTM) are 16/2 to 64/2 μg/mL.

l. For broth microdilution testing of tigecycline, when MIC panels are prepared, the medium must be prepared fresh on the day of use. The medium must be no greater than 12 hours old at the time the panels are made; however, the panels may then be frozen for later use.

m. For control organisms for vancomycin screen test for enterococci, see **Appendix D.**

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 3A. Acceptable Limits for Quality Control Strains Used to Monitor Accuracy of Minimal Inhibitory Concentrations (MICs) (μg/mL) of Fastidious Organisms

Antimicrobial Agent	*Haemophilus influenzae* ATCC® 49247[a]	*Haemophilus influenzae* ATCC® 49766	*Streptococcus pneumoniae* ATCC® 49619
Amoxicillin[b]	-	-	0.03-0.12
Amoxicillin-clavulanic acid[b]	2/1-16/8	-	0.03/0.015-0.12/0.06
Ampicillin	2-8	-	0.06-0.25
Ampicillin-sulbactam	2/1-8/4	-	-
Azithromycin	1-4	-	0.06-0.25
Aztreonam	0.12-0.5	-	-
Cefaclor	-	1-4	1-4
Cefamandole	-	0.25-1	-
Cefdinir	-	0.12-0.5	0.03-0.25
Cefditoren	0.06-0.25	-	0.015-0.12
Cefepime	0.5-2	-	0.03-0.25
Cefetamet	0.5-2	-	0.5-2
Cefixime	0.12-1	-	-
Cefmetazole	2-16	-	-
Cefonicid	-	0.06-0.25	-
Cefotaxime	0.12-0.5	-	0.03-0.12
Cefotetan	-	-	-
Cefoxitin	-	-	-
Cefpirome	0.25-1	-	-
Cefpodoxime	0.25-1	-	0.03-0.12
Cefprozil	-	1-4	0.25-1
Ceftaroline	0.03-0.12	-	0.008-0.03
Ceftazidime	0.12-1	-	-
Ceftibuten	0.25-1	-	-
Ceftizoxime	0.06-0.5	-	0.12-0.5
Ceftobiprole[c]	0.12-1	0.016-0.06	0.004-0.03
Ceftriaxone	0.06-0.25	-	0.03-0.12
Cefuroxime	-	0.25-1	0.25-1
Cephalothin	-	-	0.5-2
Chloramphenicol	0.25-1	-	2-8
Ciprofloxacin[d]	0.004-0.03	-	-
Clarithromycin	4-16	-	0.03-0.12
Clinafloxacin	0.001-0.008	-	0.03-0.12
Clindamycin	-	-	0.03-0.12
Dalbavancin[e]	-	-	0.008-0.03
Daptomycin[f]	-	-	0.06-0.5
Dirithromycin	8-32	-	0.06-0.25
Doripenem	-	0.06-0.25	0.03-0.12
Doxycycline	-	-	0.015-0.12
Enoxacin	-	-	-
Ertapenem	-	0.015-0.06	0.03-0.25
Erythromycin	-	-	0.03-0.12
Faropenem	-	0.12-0.5	0.03-0.25
Fleroxacin	0.03-0.12	-	-
Garenoxacin	0.002-0.008	-	0.015-0.06
Gatifloxacin	0.004-0.03	-	0.12-0.5
Gemifloxacin	0.002-0.008	-	0.008-0.03
Gentamicin	-	-	-
Grepafloxacin	0.002-0.015	-	0.06-0.5
Iclaprim	0.12-1	-	0.03-0.12
Imipenem	-	0.25-1	0.03-0.12
Levofloxacin	0.008-0.03	-	0.5-2
Linezolid	-	-	0.5-2
Lomefloxacin	0.03-0.12	-	-
Loracarbef	-	0.5-2	2-8
Meropenem	-	0.03-0.12	0.06-0.25
Metronidazole	-	-	-
Moxifloxacin	0.008-0.03	-	0.06-0.25
Nalidixic acid[d]	-	-	-
Nitrofurantoin	-	-	4-16

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 3A. (Continued)

Antimicrobial Agent	*Haemophilus influenzae* ATCC® 49247[a]	*Haemophilus influenzae* ATCC® 49766	*Streptococcus pneumoniae* ATCC® 49619
Norfloxacin	-	-	2-8
Ofloxacin	0.015-0.06	-	1-4
Oritavancin[e]	-	-	**0.001-0.004**
Penicillin	-	-	0.25-1
Piperacillin-tazobactam	0.06/4-0.5/4	-	-
Quinupristin-dalfopristin	2-8	-	0.25-1
Rifampin	0.25-1	-	0.015-0.06
Sparfloxacin	0.004-0.015	-	0.12-0.5
Spectinomycin	-	-	-
Telavancin	-	-	0.004-0.03
Telithromycin	1-4	-	0.004-0.03
Tetracycline	4-32	-	0.12-0.5
Tigecycline[g]	0.06-0.5	-	0.015-0.12
Trimethoprim-sulfamethoxazole	0.03/0.59-0.25/4.75	-	0.12/2.4-1/19
Trospectomycin	0.5-2	-	1-4
Trovafloxacin	0.004-0.015	-	0.06-0.25
Vancomycin	-	-	0.12-0.5

Testing Conditions for Clinical Isolates and Performance of Quality Control

Organism	*Haemophilus influenzae*	*Streptococcus pneumoniae*
Medium	Broth dilution: *Haemophilus* Test Medium (HTM) broth	Broth dilution: Cation-adjusted Mueller-Hinton broth with lysed horse blood (2.5-5% v/v)
Inoculum	Direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard	Direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard
Incubation Characteristics	35 °C; ambient air; 20-24 hours	35 °C; ambient air; 20-24 hours

NOTE 1: Information in boldface type is considered tentative for one year.

NOTE 2: For four-dilution ranges, results at the extremes of the acceptable range(s) should be suspect. Verify control validity with data from other control strains.

Footnotes

a. ATCC is a registered trademark of the American Type Culture Collection.

b. Quality control limits for *E. coli* ATCC® 35218 when tested on HTM are 4/2 to 16/8 μg/mL for amoxicillin-clavulanic acid and ≥ 256 μg/mL for amoxicillin; testing amoxicillin may help to determine if the isolate has maintained its ability to produce β-lactamase.

c. Either *H. influenzae* ATCC® 49247 or 49766 may be used for routine quality control testing.

d. Quality control limits for *E. coli* ATCC® 25922 with ciprofloxacin, nalidixic acid, minocycline, and sulfisoxazole when tested in CAMHB with 2.5 to 5% lysed horse blood incubated either in ambient air or 5% CO_2 are the same as those listed in Table 3.

e. QC ranges reflect MICs obtained when cation-adjusted Mueller-Hinton broth is supplemented with 0.002% polysorbate 80.

f. QC ranges reflect MICs obtained when Mueller-Hinton broth is supplemented with calcium to a final concentration of 50 μg/mL. Agar dilution has not been validated for daptomycin.

g. For broth microdilution testing of tigecycline, when MIC panels are prepared, the medium must be prepared fresh on the day of use. The medium must be no greater than 12 hours old at the time the panels are made; however, the panels may then be frozen for later use.

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 3B. Acceptable Limits for Quality Control Strains Used to Monitor Accuracy of Minimal Inhibitory Concentrations (MICs) (μg/mL) of Fastidious Organisms Using Agar Dilution

Antimicrobial Agent	*Neisseria gonorrhoeae* ATCC® 49226[a]	*Helicobacter pylori* ATCC® 43504
Amoxicillin	-	0.015-0.12
Cefdinir	0.008-0.03	-
Cefepime	0.015-0.06	-
Cefetamet	0.015-0.25	-
Cefixime	0.004-0.03	-
Cefmetazole	0.5-2	-
Cefotaxime	0.015-0.06	-
Cefotetan	0.5-2	-
Cefoxitin	0.5-2	-
Cefpodoxime	0.03-0.12	-
Ceftazidime	0.03-0.12	-
Ceftizoxime	0.008-0.03	-
Ceftriaxone	0.004-0.015	-
Cefuroxime	0.25-1	-
Ciprofloxacin	0.001-0.008	-
Clarithromycin	-	0.015-0.12
Doxycycline	-	-
Enoxacin	0.015-0.06	-
Erythromycin	-	-
Fleroxacin	0.008-0.03	-
Gatifloxacin	0.002-0.015	-
Gentamicin	-	-
Grepafloxacin	0.004-0.03	-
Lomefloxacin	0.008-0.03	-
Meropenem	-	-
Metronidazole	-	64-256
Moxifloxacin	**0.008-0.03**	**-**
Ofloxacin	0.004-0.015	-
Penicillin	0.25-1	-
Sparfloxacin	0.004-0.015	-
Spectinomycin	8-32	-
Telithromycin	-	0.06-0.5
Tetracycline	0.25-1	0.12-1.0
Trospectomycin	1-4	-
Trovafloxacin	0.004-0.015	-

Testing Conditions for Clinical Isolates and Performance of Quality Control

Organism	*Neisseria gonorrhoeae*	*Helicobacter pylori*
Medium	Agar dilution: GC agar base and 1% defined growth supplement. The use of a cysteine-free supplement is required for agar dilution tests with carbapenems and clavulanate. Cysteine-containing defined growth supplements *do not* significantly alter dilution test results with other drugs.	Agar Dilution: Mueller-Hinton agar with aged (≥ 2-week-old) sheep blood (5% v/v).
Inoculum	Direct colony suspension, equivalent to a 0.5 McFarland standard	A saline suspension equivalent to a 2.0 McFarland standard (containing $1x10^7$ to $1x10^8$ CFU/mL), to be prepared from a 72-hour-old subculture from a blood agar plate. The inoculum (1 to 3 μL per spot) is replicated directly on the antimicrobial agent-containing agar dilution plates.
Incubation Characteristics	36 ± 1 °C (do not exceed 37 °C); 5% CO_2; 20-24 hours	35 ± 2 °C; three days; microaerobic atmosphere produced by gas-generating system suitable for campylobacters

NOTE 1: Information in boldface type is considered tentative for one year.
NOTE 2: For four-dilution ranges, results at the extremes of the acceptable range(s) should be suspect. Verify control validity with data from other control strains.

Footnote

a. ATCC is a registered trademark of the American Type Culture Collection.

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 3C. Acceptable Limits for Quality Control Strains Used to Monitor Accuracy of Minimal Inhibitory Concentrations (MICs) (μg/mL) Generated in Cation-Adjusted Mueller-Hinton Broth + 2% Defined Growth Supplement[a]

Antimicrobial Agent	*Staphylococcus aureus* ATCC® 29213[b] 24 hours	*Staphylococcus aureus* ATCC® 29213 48 hours	*Escherichia coli* ATCC® 25922 24 hours	*Escherichia coli* ATCC® 25922 48 hours	*Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853 24 hours	*Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853 48 hours
Chloramphenicol	4-16	4-32	2-8	4-16	—	—
Ciprofloxacin	0.25-1	0.25-1	0.004-0.015	0.004-0.03	0.12-1	0.25-1
Doxycycline	0.12-1	0.25-2	1-4	1-8	4-32	4-32
Gentamicin	0.25-1	0.25-1	0.25-2	0.25-2	0.5-2	0.5-4
Levofloxacin	0.12-0.5	0.12-0.5	0.008-0.03	0.008-0.06	0.5-2	0.5-4
Nalidixic acid	—	—	1-8	2-8	—	—
Streptomycin	8-32	8-64	8-32	8-32	32-128	32-256
Tetracycline	0.25-2	0.5-4	1-4	2-8	8-32	8-64
Trimethoprim-sulfamethoxazole	≤0.25/4.75	≤0.25/4.75	≤0.5/9.5	≤0.5/9.5	—	—

NOTE 1: *Francisella tularensis* MIC results read after 24 hours of incubation should use 24-hour QC ranges; results read after 48 hours should use only the 48-hour QC ranges.

Footnotes

a. Add 2% defined growth supplement (25.9 g L-cysteine HCL, 1.1 g L-cystine, 1 g adenine, 0.03 g guanine HCL, 0.01 g vitamin B_{12}, 0.1 g cocarboxylase, 0.25 g NAD, 10 g L-glutamine, 0.02 g ferric nitrate, 100 g glucose, 3 mg thiamine HCL, and 13 mg p-aminobenzoic acid [in 1 L H_2O]) to CAMHB after autoclaving. The pH of medium should be adjusted to **7.1 ± 0.1.**

b. ATCC is a registered trademark of the American Type Culture Collection.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 3D. Acceptable Limits for Quality Control Strains Used to Monitor Accuracy of Minimal Inhibitory Concentrations (MICs) (μg/mL) Using Brucella Broth Media Without Supplements Adjusted to pH 7.1 ± 0.1

Antimicrobial Agent	*Escherichia coli* ATCC®[a] 25922 24 hours	*Escherichia coli* ATCC® 25922 48 hours	*Staphylococcus aureus* ATCC® 29213 24 hours	*Staphylococcus aureus* ATCC® 29213 48 hours	*Streptococcus pneumoniae* ATCC® 49619 24 hours	*Streptococcus pneumoniae* ATCC® 49619 48 hours
Azithromycin	-	-	2-8	2-16	0.25-1	0.25-1
Chloramphenicol	2-8	4-16	4-16	4-16	1-8	2-8
Ciprofloxacin	-	-	0.25-1	0.25-1	0.25-1	0.25-2
Doxycycline	0.5-2	1-4	0.12-0.5	0.12-0.5	0.03-0.12	0.03-0.25
Gentamicin	1-8	1-8	-	-	-	-
Levofloxacin	-	-	0.06-0.5	0.12-0.5	0.25-1	0.25-2
Rifampin	4-16	4-16	-	-	0.008-0.03	0.008-0.06
Streptomycin	4-32	4-32	8-64	8-64	16-64	16-128
Tetracycline	0.5-2	0.5-4	0.12-1	0.25-1	0.03-0.25	0.06-0.5
Trimethoprim-sulfamethoxazole	-	-	-	-	0.5/9.5-2/38	0.5/9.5-2/38

Footnote

a. ATCC is a registered trademark of the American Type Culture Collection.

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 3E. Reference Guide to Quality Control Testing Frequency

This table summarizes the suggested frequency of testing CLSI-recommended ATCC®[a] quality control strains to be performed by the user of antimicrobial susceptibility tests (AST). It applies only to antimicrobial agents for which 20 or 30 consecutive test days of quality control testing produced satisfactory results.

	Number of days of consecutive QC testing required[b]			
Test Modification	1	5	20 or 30	Comments
MIC Tests(s)				
Use new shipment or lot number	X			
Expand dilution range	X			Example: Convert from breakpoint to expanded range MIC panels.
Reduce dilution range	X			Example: Convert from expanded dilution range to breakpoint panels.
Use new method (same company)			X	Examples: Convert from visual to instrument reading of panel. Convert from overnight to rapid MIC test. In addition, perform in-house validation studies.
Use new manufacturer of MIC test			X	In addition, perform in-house validation studies.
Inoculum Preparation				
Convert inoculum preparation/ standardization to use of a device that has its own QC protocol		X		Example: Convert from visual adjustment of turbidity to use of a photometric device for which a quality control procedure is provided.
Convert inoculum preparation/ standardization to a method that is dependent on user technique			X	Example: Convert from visual adjustment of turbidity to another method that is not based on a photometric device.
Instrument/Software				
Software update that affects AST results		X		Monitor all drugs, not just those implicated in software modification.
Repair of instrument that affects AST results	X			Depending on extent of repair (eg, critical component such as the optics), additional testing may be appropriate (eg, five days).

NOTE 1: Addition of any NEW antimicrobial agent requires 20 or 30 consecutive days of satisfactory testing (see M7-A7, Section 16.7) prior to use of this guide.

NOTE 2: QC can be performed prior to or concurrent with testing patient isolates. Patient results can be reported for that day if quality control results are within the acceptable limits.

NOTE 3: Manufacturers of commercial or in-house prepared tests should follow their own internal procedures and applicable regulations.

NOTE 4: Acceptable MIC QC limits for FDA-cleared antimicrobial susceptibility tests may differ slightly from acceptable CLSI QC limits. Users of each device should utilize the manufacturer's procedures and QC limits as indicated in the instructions for use.

NOTE 5: For troubleshooting out-of-range results, refer to M7-A7, Section 16.9.

NOTE 6: Broth, saline, and/or water used to prepare an inoculum does not require routine quality control.

Footnotes

a. ATCC is a registered trademark of the American Type Culture Collection.

b. Does not eliminate the need for routine weekly or daily QC testing.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 3F. MIC QC Troubleshooting Guide

This table provides guidance for troubleshooting and corrective action for out-of-range quality control primarily using antimicrobial susceptibility tests with CAMHB broth microdilution. Refer to M7-A7 MIC, Section 16, Quality Control Procedures and Appendix A, Quality Control Protocol Flow Charts for additional information. Out-of-range quality control tests should first be repeated. If the issue is unresolved, this troubleshooting guide provides additional suggestions for troubleshooting out-of-range quality control results and unusual clinical isolate results. In addition, if unresolved, manufacturers should be notified of potential product problems.

General Comments

(1) QC organism maintenance: Avoid repeated subcultures. Retrieve new QC strain from stock. If using lyophilized strains, follow the maintenance recommendations of the manufacturer. Store *E. coli* ATCC®[a] 35218 and *K. pneumoniae* ATCC® 700603 stock cultures at -60 °C or below and prepare working stock cultures weekly.

Antimicrobial Agent	QC Strain	Observation	Probable Cause	Comments/Suggested Actions
Aminoglycosides	Any	MIC too high	pH of media too low	Acceptable pH range = 7.2-7.4 Avoid CO_2 incubation, which lowers pH.
Aminoglycosides	Any	MIC too low	pH of media too high	Acceptable pH range = 7.2-7.4
Aminoglycosides	*P. aeruginosa* ATCC® 27853	MIC too high	Ca++ and/or Mg++ content too high	Acceptable range = Ca++ 20-25 mg/L Mg++ 10-12.5 mg/L
Aminoglycosides	*P. aeruginosa* ATCC® 27853	MIC too low	Ca++ and/or Mg++ content too low	Acceptable range = Ca++ 20-25 mg/L Mg++ 10-12.5 mg/L
Amoxicillin-clavulanic acid	*E. coli* ATCC® 35218	MIC too high	Clavulanic acid is labile. Antimicrobial agent is degrading.	Use alternative lot. Check storage and package integrity.
β-lactam group	Any	MIC initially acceptable but increases possibly out-of-range over time	Antimicrobial agent is degrading.	Use alternative lot. Check storage and package integrity. Imipenem, cefaclor, and clavulanic acid are especially labile.
Aztreonam Cefotaxime Cefpodoxime Ceftazidime Ceftriaxone	*K. pneumoniae* ATCC® 700603	MIC too low	Spontaneous loss of the plasmid encoding the β-lactamase.	See comment (1) on QC organism maintenance.
Cefotaxime/clavulanic acid Ceftazidime/clavulanic acid	*K. pneumoniae* ATCC® 700603	Negative ESBL confirmatory test	Spontaneous loss of the plasmid encoding the β-lactamase.	See comment (1) on QC organism maintenance.
Carbapenems	*P. aeruginosa* ATCC® 27853	MIC too high	Zn++ concentration in media is too high	Use alternative lot.
Carbapenems	*P. aeruginosa* ATCC® 27853	MIC too high	Antimicrobial agent is degrading	Use alternative lot. Check storage and package integrity. Repeated imipenem results of 4 μg/mL with *P. aeruginosa* ATCC® 27853 may be indicative of deterioration of the drug.
Penicillin	*S. aureus* ATCC® 29213	MIC too high	QC strain is a β-lactamase producer; over-inoculation may yield increased MICs	Repeat with a carefully adjusted inoculum.
Penicillins	Any	MIC too low	pH of media too low	Acceptable pH range = 7.2-7.4 Avoid CO_2 incubation, which lowers pH.
Penicillins	Any	MIC too high	pH of media too high	Acceptable pH range = 7.2-7.4
Carbenicillin	*P. aeruginosa* ATCC® 27853	MIC too high	QC strain develops resistance after repeated subculture	See comment (1) on QC organism maintenance.
Ticarcillin-clavulanic acid	*E. coli* ATCC® 35218	MIC too high	Clavulanic acid is labile. Antimicrobial agent is degrading.	Use alternative lot. Check storage and package integrity.
Clindamycin	*S. aureus* ATCC® 29213 *E. faecalis* ATCC® 29212	MIC too high	pH of media too low	Acceptable pH range = 7.2-7.4 Avoid CO_2 incubation, which lowers pH.

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 3F. (Continued)

Antimicrobial Agent	QC Strain	Observation	Probable Cause	Comments/Suggested Actions
Clindamycin	*S. aureus* ATCC® 29213 *E. faecalis* ATCC® 29212	MIC too low	pH of media too high	Acceptable pH range = 7.2-7.4
Daptomycin	*S. aureus* ATCC® 29213 *E. faecalis* ATCC® 29212	MICs too high MICs too low	Ca++ content too low Ca++ content too high	Acceptable Ca++ content 50 µg/mL in CAMHB Adjust Ca++ concentration in or try alternative lots.
Macrolides and Ketolides	*S. aureus* ATCC® 29213 *E. faecalis* ATCC® 29212	MIC too high	pH of media too low	Acceptable pH range = 7.2-7.4 Avoid CO_2 incubation, which lowers pH.
Macrolides and Ketolides	*S. aureus* ATCC® 29213 *E. faecalis* ATCC® 29212	MIC too low	pH of media too high	Acceptable pH range = 7.2-7.4
Quinolones	Any	MIC too high	pH of media too low	Acceptable pH range = 7.2-7.4 Avoid CO_2 incubation, which lowers pH.
Quinolones	Any	MIC too low	pH of media too high	Acceptable pH range = 7.2-7.4
Tetracyclines	Any	MIC too low	pH of media too low	Acceptable pH range = 7.2-7.4
Tetracyclines	Any	MIC too high	pH of media too high	Acceptable pH range = 7.2-7.4
Tetracyclines	Any	MIC too high	Ca++ and/or Mg++ content too high	Acceptable range = Ca++ 20-25 mg/L Mg++ 10-12.5 mg/L
Tetracyclines	Any	MIC too low	Ca++ and/or Mg++ content too low	Acceptable range = Ca++ 20-25 mg/L Mg++ 10-12.5 mg/L
Tigecycline	Any	MIC too high	CAMHB has not been freshly prepared	Reference panels must be used or frozen within 12 hours of CAMHB preparation.
Various	Any	Many MICs too low	Inoculum too light; error in inoculum preparation	Repeat using McFarland 0.5 turbidity standard or standardizing device. Check expiration date and proper storage if using barium sulfate or latex standards. Check steps in inoculum preparation and inoculation procedure. Perform colony count check of growth control well immediately after inoculation and before incubation (*E. coli* ATCC® 25922 closely approximates 5 x 10^5 CFU/mL).
Various	Any	Many MICs too high or too low	CAMHB not optimal	Use alternative lot.
Various	Any	Many MICs too high	Inoculum too heavy	Repeat using McFarland 0.5 turbidity standard or standardizing device. Check expiration date and proper storage if using barium sulfate or latex standards. Check steps in inoculum preparation and inoculation procedure. Perform colony count check of growth control well immediately after inoculation and before incubation (*E. coli* ATCC® 25922 closely approximates 5 x 10^5 CFU/mL).
Various	Any	Skipped wells	Contamination. Improper inoculation of panel or inadequate mixing of inoculum. Actual concentration of drug in well(s) inaccurate. Volume of broth in wells inaccurate.	Repeat QC test. Use alternative lot.
Various	Any	Several MICs too high or too low	Possible reading/transcription error	Recheck readings. Use alternative lot.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 3F. (Continued)

Antimicrobial Agent	QC Strain	Observation	Probable Cause	Comments/Suggested Actions
Various	*S. pneumoniae* ATCC® 49619	MICs too low	Inoculum source plate too old and contains too many nonviable cells. Plate used to prepare inoculum should be 18-20 hours. MHB with LHB not optimal.	Subculture QC strain and repeat QC test; or subculture new QC strain from stock culture. Use alternative lot.
Various	Any	One QC strain is out-of-range, but other QC strain(s) are in range with the same antimicrobial agent	One QC organism may be a better indicator of a QC problem (eg, *P. aeruginosa* ATCC® 27853 is a better indicator of imipenem deterioration than *E. coli* ATCC® 25922).	Determine if the in-range QC strain has an on-scale endpoint for the agent in question. Retest this strain to confirm reproducibility of acceptable results. Evaluate with alternative strains with known MICs. Initiate corrective action with problem QC strain/antimicrobial agent(s).
Various	Any	Two QC strains out-of-range with the same antimicrobial agent	Indicative of a problem with the antimicrobial agent. May be a systemic problem.	Initiate corrective action.
Various	Any	One QC result out-of-range, but the antimicrobial agent is not an agent reported for patient results (eg, not on hospital formulary)		If antimicrobial agent is not normally reported, no repeat is necessary if adequate controls are in place to prevent reporting of the out-of-range antimicrobial agent. Carefully check antimicrobial agents of the same class for similar trend toward out-of-control results. If the antimicrobial agent in question is consistently out-of-control, contact the manufacturer.

Footnote

a. ATCC is a registered trademark of the American Type Culture Collection.

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

This page is intentionally left blank.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 4. Solvents and Diluents for Preparation of Stock Solutions of Antimicrobial Agents

Antimicrobial Agent	Solvent	Diluent
Amikacin	Water	
Amoxicillin	Phosphate buffer, pH 6.0, 0.1 mol/L	Phosphate buffer, pH 6.0, 0.1 mol/L
Ampicillin	Phosphate buffer, pH 8.0, 0.1 mol/L	Phosphate buffer, pH 6.0, 0.1 mol/L
Azithromycin	95% ethanol or glacial acetic acid[e,f]	Broth media
Azlocillin	Water	
Aztreonam	Saturated solution sodium bicarbonate	Water
Carbenicillin	Water	
Cefaclor	Water	
Cefadroxil	Phosphate buffer, pH 6.0, 0.1 mol/L	Water
Cefamandole	Water	
Cefazolin	Phosphate buffer, pH 6.0, 0.1 mol/L	Phosphate buffer, pH 6.0, 0.1 mol/L
Cefdinir	Phosphate buffer, pH 6.0, 0.1 mol/L	Water
Cefditoren	Phosphate buffer, pH 6.0, 0.1 mol/L	Water
Cefepime	Phosphate buffer, pH 6.0, 0.1 mol/L	Phosphate buffer, pH 6.0, 0.1 mol/L
Cefetamet	Phosphate buffer, pH 6.0, 0.1 mol/L	Water
Cefixime	Phosphate buffer, pH 7.0, 0.1 mol/L	Phosphate buffer, pH 7.0, 0.1 mol/L
Cefmetazole	Water	
Cefonicid	Water	
Cefoperazone	Water	
Cefotaxime	Water	
Cefotetan	DMSO[e,g]	Water
Cefoxitin	Water	
Cefpodoxime	0.10% (11.9 mmol/L) aqueous sodium bicarbonate	Water
Cefprozil	Water	
Ceftaroline	0.85% physiological saline	0.85% physiological saline
Ceftazidime	Sodium carbonate[d]	Water
Ceftibuten	1/10 vol DMSO[g]	Water
Ceftizoxime	Water	
Ceftobiprole	DMSO[g] plus glacial acetic acid[e,i]	Water, vortex vigorously
Ceftriaxone	Water	
Cefuroxime	Phosphate buffer, pH 6.0, 0.1 mol/L	Phosphate buffer, pH 6.0, 0.1 mol/L
Cephalexin	Phosphate buffer, pH 6.0, 0.1 mol/L	Water
Cephalothin	Phosphate buffer, pH 6.0, 0.1 mol/L	Water
Cephapirin	Phosphate buffer, pH 6.0, 0.1 mol/L	Water
Cephradine	Phosphate buffer, pH 6.0, 0.1 mol/L	Water
Chloramphenicol	95% ethanol	Water
Cinoxacin	1/2 volume of water, then add 1 mol/L NaOH, dropwise to dissolve	Water
Ciprofloxacin	Water	
Clarithromycin	Methanol[e] or glacial acetic acid[e,f]	Phosphate buffer, pH 6.5, 0.1 mol/L
Clavulanic acid	Phosphate buffer, pH 6.0, 0.1 mol/L	Phosphate buffer, pH 6.0, 0.1 mol/L
Clinafloxacin	Water	
Clindamycin	Water	
Colistin[a]	Water	Water
Dalbavancin	DMSO[g]	DMSO[g,h]
Daptomycin	Water	Water

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 4. (Continued)

Antimicrobial Agent	Solvent	Diluent
Dirithromycin	Glacial acetic acid[f]	Water
Doripenem	0.85% physiological saline	0.85% physiological saline
Doxycycline	Water	
Enoxacin	1/2 volume of water, then 0.1 mol/L NaOH dropwise to dissolve	Water
Ertapenem	Phosphate buffer, pH 7.2, 0.01 mol/L	Phosphate buffer, pH 7.2, 0.01 mol/L
Erythromycin	95% ethanol or glacial acetic acid[e,f]	Water
Faropenem	Water	Water
Fleroxacin	1/2 volume of water, then 0.1 mol/L NaOH dropwise to dissolve	Water
Garenoxacin	Water (with stirring)	
Gatifloxacin	Water (with stirring)	
Gemifloxacin	Water	
Gentamicin	Water	
Iclaprim	DMSO[g]	Water
Imipenem	Phosphate buffer, pH 7.2, 0.01 mol/L	Phosphate buffer, pH 7.2, 0.01 mol/L
Kanamycin	Water	
Levofloxacin	1/2 volume of water, then 0.1 mol/L NaOH dropwise to dissolve	Water
Linezolid	Water	
Lomefloxacin	**Water**	
Loracarbef	Water	
Mecillinam	Water	
Meropenem	Water	
Methicillin	Water	
Metronidazole	DMSO[e,g]	Water
Mezlocillin	Water	
Minocycline	Water	
Moxalactam (diammonium salt)[b]	0.04 mol/L HCl (let sit for 1.5 to 2 h)	Phosphate buffer, pH 6.0, 0.1 mol/L
Moxifloxacin	Water	
Nafcillin	Water	
Nalidixic acid	1/2 volume of water, then add 1 mol/L NaOH, dropwise to dissolve	
Netilmicin	Water	
Nitrofurantoin[c]	Phosphate buffer, pH 8.0, 0.1 mol/L	Phosphate buffer, pH 8.0, 0.1 mol/L
Norfloxacin	1/2 volume of water, then 0.1 mol/L NaOH dropwise to dissolve	Water
Ofloxacin	1/2 volume of water, then 0.1 mol/L NaOH dropwise to dissolve	Water
Oritavancin	**0.002% polysorbate-80 in water[j]**	**0.002% polysorbate-80 in water[j]**
Oxacillin	Water	
Penicillin	Water	
Piperacillin	Water	
Polymyxin B	Water	Water
Quinupristin-dalfopristin	Water	
Rifampin	Methanol[e] [maximum concentration = 640 μg/mL]	Water (with stirring)
Sparfloxacin	Water	
Spectinomycin	Water	
Streptomycin	Water	
Sulbactam	Water	

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 4. (Continued)

Antimicrobial Agent	Solvent	Diluent
Sulfonamides	1/2 volume hot water and minimal amount of 2.5 mol/L NaOH to dissolve	Water
Tazobactam	Water	
Telavancin	DMSO[g]	Water
Telithromycin	Glacial acetic acid[f]	Water
Tetracycline	Water	
Ticarcillin	Phosphate buffer, pH 6.0, 0.1 mol/L	Phosphate buffer, pH 6.0, 0.1 mol/L
Tigecycline	Water	Water
Tobramycin	Water	
Trimethoprim	0.05 mol/L lactic[e] or hydrochloric[e] acid, 10% of final volume	Water (may require heat)
Trimethoprim (if lactate)	Water	
Trospectomycin	Water	
Vancomycin	Water	

NOTE: Information in boldface type is considered tentative for one year.

Footnotes

a. The formulation of colistin used in antimicrobial susceptibility tests is colistin sulfate and not colistin methane sulfonate (sulfomethate).

b. The diammonium salt of moxalactam is very stable, but it is almost pure R isomer. Moxalactam for clinical use is a 1:1 mixture of R and S isomers. Therefore, the salt is dissolved in 0.04 mol/L HCl and allowed to react for 1.5 to 2 hours to convert it to equal parts of both isomers.

c. Alternatively, nitrofurantoin is dissolved in dimethyl sulfoxide.

d. Anhydrous sodium carbonate is used at a weight of exactly 10% of the ceftazidime to be used. The sodium carbonate is dissolved in solution in most of the required water. The antibiotic is dissolved in this sodium carbonate solution, and water is added to the desired volume. The solution is to be used as soon as possible, but it can be stored up to six hours at no more than 25 °C.

e. These compounds are potentially toxic. Consult the material safety data sheets (MSDS) available from the product manufacturer before using any of these materials.

f. For glacial acetic acid, use 1/2 volume of water, then add glacial acetic acid dropwise until dissolved, not to exceed 2.5 μL/mL.

g. Dimethyl sulfoxide (DMSO)

h. Starting stock solutions of dalbavancin should be prepared at concentrations no higher than 1600 µg/mL. Intermediate 100x concentrations should then be diluted in DMSO. Final 1:100 dilutions should then be made directly into CAMHB supplemented with 0.002% (v/v) polysorbate-80, so that the final concentration of DMSO in the wells is no greater than 1%. See also Table 6A.

i. For each 1.5 mg ceftobiprole, add 110 μL of a 10:1 mixture of DMSO and glacial acetic acid. Vortex vigorously for one minute, then intermittently for 15 minutes. Dilute to 1.0 mL with distilled water.

j. Starting stock solutions of oritavancin should be prepared at concentrations no higher than 1600 μg/mL in 0.002% polysorbate-80 in water. Intermediate 100X oritavancin concentrations should then be prepared in 0.002% polysorbate-80 in water. Final 1:100 dilutions should be made directly into CAMHB supplemented with 0.002% polysorbate-80, so that the final concentration of polysorbate-80 in the wells is 0.002%.

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

© Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Table 4A. Preparation of Stock Solutions for Antimicrobial Agents Provided With Activity Expressed as Units

Antimicrobial Agent	Pure Agent (reference)	Calculation for µg/mg	Example
Potassium Penicillin G	0.625 µg/unit [1]	Multiply the activity expressed in units/mg by 0.625 µg/unit.	Activity units/mg x 0.625 µg/unit = Activity µg/mg (eg, 1592 units/mg x 0.625 µg/unit = 995 µg/mg)
Sodium Penicillin G	0.6 µg/unit [1]	Multiply the activity expressed in units/mg by 0.6 µg/unit.	Activity units/mg x 0.6 µg/unit = Activity µg/mg (eg, 1477 units/mg x 0.6 µg/unit = 886.2 µg/mg)
Polymyxin B	10 000 units/mg = 10 units/µg = 0.1 µg/unit [2]	Multiply the activity expressed in units/mg by 0.1 µg/unit.	Activity units/mg x 0.1 µg/unit = Activity µg/mg (eg, 8120 units/mg x 0.1 µg/unit = 812 µg/mg)
		Divide the activity expressed in units/mg by 10 units/µg.	Activity units/mg / 10 units/µg = Activity µg/mg (eg, 8120 units/mg / 10 units/mg = 812 µg/mg)
Colistin sulfate[a]	30 000 units/mg = 30 units/µg = 0.03333 µg/unit [2]	Multiply the activity expressed in units/mg by 0.03333 µg/unit.	Activity units/mg x 0.03333 µg/unit = Activity µg/mg (eg, 20 277 units/mg x 0.03333 µg/unit = 676 µg/mg)
		Divide the activity expressed in units/mg by 30 units/mg.	Activity units/mg / 30 units/µg = Activity µg/mg (eg, 20 277 units/mg / 30 units/µg = 676 µg/mg)
Streptomycin	785 units/mg [3]	Divide the number of units given for the powder by 785. This will give the percent purity of the powder. Multiply the percent purity by 850, which is the amount in the purest form of streptomycin. This will equal the activity factor in µg/mg.	([Potency units/mg]/[785 units/mg]) x (850 µg/mg) = Potency µg/mg [eg, (751 units/mg / 785 units/mg) x 850 µg/mg = 813 µg/mg] If powder contains 2.8% water: 813 x (1-0.028) = potency 813 x 0.972 = 790 µg/mg

Footnote

[a]Do not use colistin methanesulfonate for *in vitro* antimicrobial susceptibility tests.

References to Table 4A:

1. Kucers A, Crowe SM, Grayson ML, Hoy JF. Penicillin G (Pen G). *The Use of Antibiotics.* 5th ed. Oxford, UK: Butterworth-Heinemann; 1997:3-70.
2. Kucers A, Crowe SM, Grayson ML, Hoy JF. Polymyxins. *The Use of Antibiotics.* 5th ed. Oxford, UK: Butterworth-Heinemann; 1997:667-675.
3. United States Department of Agriculture, O. o. P. H. S., Laboratory QA/QC Division. *Bioassay for the detection, identification and quantitation of antimicrobial residues in meat and poultry tissue*. 2004;1-58, vol. MLG 34.01.

Table 4A
Stock Solutions
M7-MIC

Table 5. Scheme for Preparing Dilutions of Antimicrobial Agents to Be Used in Agar Dilution Susceptibility Tests

	Antimicrobial Solution						
Step	**Concentration (μg/mL)**	**Source**	**Volume (mL)**	**Diluent (mL)**	**Intermediate Concentration (μg/mL)**	**Final Concentration at 1:10 Dilution in Agar (μg/mL)**	**Log_2**
	5120	Stock	-	-	5120	512	9
1	5120	Stock	2	2	2560	256	8
2	5120	Stock	1	3	1280	128	7
3	5120	Stock	1	7	640	64	6
4	640	Step 3	2	2	320	32	5
5	640	Step 3	1	3	160	16	4
6	640	Step 3	1	7	80	8	3
7	80	Step 6	2	2	40	4	2
8	80	Step 6	1	3	20	2	1
9	80	Step 6	1	7	10	1	0
10	10	Step 9	2	2	5	0.5	-1
11	10	Step 9	1	3	2.5	0.25	-2
12	10	Step 9	1	7	1.25	0.125	-3

NOTE: This table is modified from Ericsson HM, Sherris JC. Antibiotic sensitivity testing. Report of an international collaborative study. *Acta Pathol Microbiol Scand*. 1971;217 (suppl B):1-98.

Table 5
Dilution Scheme for
Agar Dilution Tests
M7-MIC

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 6. Scheme for Preparing Dilutions of Antimicrobial Agents to Be Used in Broth Dilution Susceptibility Tests

	Antimicrobial Solution						
Step	**Concentration (μg/mL)**	**Source**	**Volume[a] (mL)**	**+**	**CAMHB[b] Volume[a] (mL)**	**=**	**Final Concentration (μg/mL)**	**Log_2**
1	5120	Stock	1		9		512	9
2	512	Step 1	1		1		256	8
3	512	Step 1	1		3		128	7
4	512	Step 1	1		7		64	6
5	64	Step 4	1		1		32	5
6	64	Step 4	1		3		16	4
7	64	Step 4	1		7		8	3
8	8	Step 7	1		1		4	2
9	8	Step 7	1		3		2	1
10	8	Step 7	1		7		1	0
11	1	Step 10	1		1		0.5	-1
12	1	Step 10	1		3		0.25	-2
13	1	Step 10	1		7		0.125	-3

NOTE: This table is modified from Ericsson HM, Sherris JC. Antibiotic sensitivity testing. Report of an international collaborative study. *Acta Pathol Microbiol Scand*. 1971;217 (suppl B):1-90.

Footnotes

a. The volumes selected can be any multiple of these figures, depending on the number of tests to be performed.

b. CAMHB, cation-adjusted Mueller-Hinton broth. Adjustment with cations, if necessary, occurs before this step.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Table 6A. Scheme for Preparing Dilution Series of Water-Insoluble Agents to Be Used in Broth Dilution Susceptibility Tests

Antimicrobial Solution							
Step	**Concentration (µg/mL)**	**Source**	**Volume (mL) +**	**Solvent (mL) (eg, DMSO*) =**	**Intermediate Concentration (µg/mL) =**	**Final Concentration at 1:100 (µg/mL)**	**Log_2**
1	1600	Stock			1600	16	4
2	1600	Stock	0.5	0.5	800	8.0	3
3	1600	Stock	0.5	1.5	400	4.0	2
4	1600	Stock	0.5	3.5	200	2.0	1
5	200	Step 4	0.5	0.5	100	1.0	0
6	200	Step 4	0.5	1.5	50	0.5	-1
7	200	Step 4	0.5	3.5	25	0.25	-2
8	25	Step 7	0.5	0.5	12.5	0.125	-3
9	25	Step 7	0.5	1.5	6.25	0.0625	-4
10	25	Step 7	0.5	3.5	3.1	0.03	-5
11	0.03	Step 10	0.5	0.5	1.6	0.016	-6
12	0.03	Step 10	0.5	1.5	0.8	0.008	-7
13	0.03	Step 10	0.5	3.5	0.4	0.004	-8
14	0.004	Step 13	0.5	0.5	0.2	0.002	-9

*Dimethyl sulfoxide

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

This page is intentionally left blank.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Appendix A. Screening and Confirmatory Tests for ESBLs in *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca, Escherichia coli,* and *Proteus mirabilis*[a]

Test	Initial Screen Test		Phenotypic Confirmatory Test	
Test Method	Disk diffusion	Broth microdilution	Disk diffusion	Broth microdilution
Medium	Mueller-Hinton Agar	CAMHB[a]	Mueller-Hinton Agar	CAMHB[a]
Antimicrobial concentration	For *K. pneumoniae, K. oxytoca,* and *E. coli*: Cefpodoxime 10 μg or ceftazidime 30 μg or aztreonam 30 μg or cefotaxime 30 μg or ceftriaxone 30 μg For *P. mirabilis*[b]: Cefpodoxime 10 μg or ceftazidime 30 μg or cefotaxime 30 μg (The use of more than one antimicrobial agent for screening improves the sensitivity of detection.)	For *K. pneumoniae, K. oxytoca,* and *E. coli*: Cefpodoxime 4 μg/mL or ceftazidime 1 μg/mL or aztreonam 1 μg/mL or cefotaxime 1 μg/mL or ceftriaxone 1 μg/mL For *P. mirabilis*[b]: Cefpodoxime 1 μg/mL or ceftazidime 1 μg/mL or cefotaxime 1 μg/mL (The use of more than one antimicrobial agent for screening will improve the sensitivity of detection.)	Ceftazidime 30 μg Ceftazidime-clavulanic acid[c] 30/10 μg and Cefotaxime 30 μg Cefotaxime-clavulanic acid[c] 30/10 μg (Confirmatory testing requires use of both cefotaxime and ceftazidime, alone and in combination with clavulanic acid.)	Ceftazidime 0.25-128 μg/mL Ceftazidime-clavulanic acid 0.25/4-128/4 μg/mL and Cefotaxime 0.25-64 μg/mL Cefotaxime-clavulanic acid 0.25/4-64/4 μg/mL (Confirmatory testing requires use of both cefotaxime and ceftazidime, alone and in combination with clavulanic acid.)
Inoculum	Standard disk diffusion recommendations	Standard broth dilution recommendations	Standard disk diffusion recommendations	Standard broth dilution recommendations
Incubation conditions	35 ± 2 °C; ambient air	35 ± 2 °C; ambient air	35 ± 2 °C; ambient air	35 ± 2 °C; ambient air
Incubation length	16 – 18 hours	16 – 20 hours	16 – 18 hours	16 – 20 hours

© Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Appendix A. (Continued)

Test	Initial Screen Test		Phenotypic Confirmatory Test	
Results	For *K. pneumoniae, K. oxytoca,* and *E. coli*: Cefpodoxime zone ≤ 17 mm Ceftazidime zone ≤ 22 mm Aztreonam zone ≤ 27 mm Cefotaxime zone ≤ 27 mm Ceftriaxone zone ≤ 25 mm For *P. mirabilis*[b]: Cefpodoxime zone ≤ 22 mm Ceftazidime zone ≤ 22 mm Cefotaxime zone ≤ 27 mm Zones above may indicate ESBL production.	Growth at or above the screening concentrations may indicate ESBL production (ie, for *E. coli, K. pneumoniae,* and *K. oxytoca,* MIC ≥ 8 μg/mL for cefpodoxime or MIC ≥ 2 μg/mL for ceftazidime, aztreonam, cefotaxime, or ceftriaxone; and for *P. mirabilis* MIC ≥ 2 μg/mL for cefpodoxime, ceftazidime, or cefotaxime).	A ≥ 5-mm increase in a zone diameter for either antimicrobial agent tested in combination with clavulanic acid vs its zone when tested alone = ESBL (eg, ceftazidime zone = 16; ceftazidime-clavulanic acid zone = 21).	A ≥ 3 twofold concentration decrease in an MIC for either antimicrobial agent tested in combination with clavulanic acid vs its MIC when tested alone = ESBL (eg, ceftazidime MIC = 8 μg/mL; ceftazidime-clavulanic acid MIC = 1 μg/mL).
Reporting			For all confirmed ESBL-producing strains, the test interpretation should be reported as resistant for all penicillins, cephalosporins, and aztreonam.	
QC recommendations	When testing ESBL-screening antimicrobial agents, *K. pneumoniae* ATCC® 700603 is provided for quality assessment (eg, training, competency, or test evaluation). Either strain, *K. pneumoniae* ATCC® 700603 or *E. coli* ATCC® 25922, may then be used for routine QC (eg, weekly or daily). *E. coli* ATCC® 25922 (see control limits in Table 3). *K. pneumoniae* ATCC® 700603: Cefpodoxime zone 9-16 mm Ceftazidime zone 10-18 mm Aztreonam zone 9-17 mm Cefotaxime zone 17-25 mm Ceftriaxone zone 16-24 mm	When testing ESBL-screening antimicrobial agents, *K. pneumoniae* ATCC® 700603 is provided for quality assessment (eg, training, competency, or test evaluation). Either strain, *K. pneumoniae* ATCC® 700603 or *E. coli* ATCC® 25922, may then be used for routine QC (eg, weekly or daily). *E. coli* ATCC® 25922 = No growth (also refer to control limits listed in M7, Table 3). *Klebsiella pneumoniae* ATCC® 700603 = Growth: Cefpodoxime MIC ≥ 8 μg/mL Ceftazidime MIC ≥ 2 μg/mL Aztreonam MIC ≥ 2 μg/mL Cefotaxime MIC ≥ 2 μg/mL Ceftriaxone MIC ≥ 2 μg/mL	When performing the ESBL confirmatory tests, *K. pneumoniae* ATCC® 700603 and *E. coli* ATCC® 25922 should be tested routinely (eg, weekly or daily). *E. coli* ATCC® 25922: ≤ 2-mm increase in zone diameter for antimicrobial agent tested alone vs its zone when tested in combination with clavulanic acid. *K. pneumoniae* ATCC® 700603: ≥ 5-mm increase in ceftazidime-clavulanic acid zone diameter; ≥ 3-mm increase in cefotaxime-clavulanic acid zone diameter.	When performing the ESBL confirmatory tests, *K. pneumoniae* ATCC® 700603 and *E. coli* ATCC® 25922 should be tested routinely (eg, weekly or daily). *E. coli* ATCC® 25922: < 3 twofold concentration decrease in an MIC for an antimicrobial agent tested in combination with clavulanic acid vs its MIC when tested alone. *K. pneumoniae* ATCC® 700603: ≥ 3 twofold concentration decrease in an MIC for an antimicrobial agent tested in combination with clavulanic acid vs its MIC when tested alone.

Footnotes

a. CAMHB = cation-adjusted Mueller-Hinton broth
b. Screening of *Proteus mirabilis* for ESBL production is recommended only when it is deemed clinically relevant (eg, a bacteremic isolate).
c. Preparation of ceftazidime-clavulanic acid (30 μg/10 μg) and cefotaxime-clavulanic acid (30 μg/10 μg) disks: Using a stock solution of clavulanic acid at 1000 μg/mL (either freshly prepared or taken from small aliquots that have been frozen at -70 °C), add 10 μL of clavulanic acid to ceftazidime (30 μg) and cefotaxime (30 μg) disks. Use a micropipette to apply the 10 μL of stock solution to the ceftazidime and cefotaxime disks within one hour before they are applied to the plates, allowing about 30 minutes for the clavulanic acid to absorb and the disks to be dry enough for application. Use disks immediately after preparation or discard; do not store.

© Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Appendix B. Screening Tests for Beta-Lactamase Production, Oxacillin Resistance, *mec*A-Mediated Oxacillin Resistance Using Cefoxitin, Reduced Susceptibility to Vancomycin, and Inducible Clindamycin Resistance in *Staphylococcus aureus* Group

Screen Test	Beta-Lactamase	Oxacillin Resistance	*mec*A-Mediated Oxacillin Resistance Using Cefoxitin		Reduced Susceptibility to Vancomycin	Inducible Clindamycin Resistance	
Organism group	*S. aureus* and *S. lugdunensis* with penicillin MICs ≤ 0.12 µg/mL or zones ≥ 29 mm	*S. aureus*	*S. aureus* and *S. lugdunensis*		*S. aureus*	*S. aureus* and *S. lugdunensis* resistant to erythromycin and susceptible or intermediate to clindamycin	
Test method	Nitrocefin-based test	Agar dilution	Disk diffusion	Broth microdilution	Agar dilution	Disk Diffusion	Broth microdilution
Medium	NA	Mueller-Hinton agar with 4% NaCl	Mueller-Hinton agar	CAMHB[a]	BHI agar	Mueller-Hinton agar or blood agar purity plate used with MIC tests	CAMHB[a]
Antimicrobial concentration	NA	6 µg/mL oxacillin	30 µg cefoxitin disk	4 µg/mL cefoxitin	6 µg/mL vancomycin	15-µg erythromycin disk and 2-µg clindamycin disk spaced 15 mm apart	4 µg/mL erythromycin and 0.5 µg/mL clindamycin in same well
Inoculum	Induced growth (ie, growth taken from the zone margin surrounding an oxacillin or cefoxitin disk test after 16-18 hours of incubation).	Direct colony suspension to obtain 0.5 McFarland turbidity. Using a 1-µL loop that was dipped in the suspension, spot an area 10 to 15 mm in diameter. Alternatively, using a swab dipped in the suspension and expressed, spot a similar area or streak an entire quadrant.	Standard disk diffusion recommendations	Standard broth microdilution recommendations	Direct colony suspension to obtain 0.5 McFarland turbidity. Preferably, using a micropipette, spot a 10 µL drop onto agar surface. Alternatively, using a swab dipped in the suspension and the excess liquid expressed, spot an area 10 to 15 mm in diameter or streak a portion of the plate.	Standard disk diffusion recommendations or heavily inoculated area of purity plate	Standard broth microdilution recommendations
Incubation conditions	Room temperature	33 - 35 °C; ambient air (Testing at temperatures above 35 °C may not detect MRSA.)	33 - 35 °C; ambient air (Testing at temperatures above 35 °C may not detect MRSA.)	33 - 35 °C; ambient air (Testing at temperatures above 35 °C may not detect MRSA.)	35 ± 2 °C; ambient air	35 ± 2 °C; ambient air	35 ± 2 °C; ambient air
Incubation length	Up to 1 hour for nitrocefin-based test or follow manufacturer's directions	24 hours	16 - 18 hours	16 - 20 hours	24 hours	16 - 18 hours	18 - 24 hours

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Appendix B. (Continued)

Screen Test	Beta-Lactamase	Oxacillin Resistance	*mec*A-Mediated Oxacillin Resistance Using Cefoxitin		Reduced Susceptibility to Vancomycin	Inducible Clindamycin Resistance	
Results	Nitrocefin-based test: conversion from yellow to red/pink = β-lactamase positive.	Examine carefully with transmitted light for >1 colony or light film of growth. >1 colony = oxacillin resistant.	≤ 21 mm = *mec*A positive ≥ 22 mm = *mec*A negative	> 4 µg/mL = *mec*A positive ≤ 4 µg/mL = *mec*A negative	Examine carefully with transmitted light for >1 colony or light film of growth. >1 colony = presumptive reduced susceptibility to vancomycin.	Flattening of the disk adjacent to the erythromycin disk (referred to as a "D" zone) = inducible clindamycin resistance. Hazy growth within the zone of inhibition around clindamycin = clindamycin resistance even if no D zone apparent.	any growth = inducible clindamycin resistance; no growth = no inducible clindamycin resistance
Further testing and reporting	β-lactamase-positive staphylococci are resistant to penicillin, amino-, carboxy-, and ureidopenicillins.	Oxacillin-resistant staphylococci are resistant to all β-lactam agents; other β-lactam agents should be reported as resistant or should not be reported.	Cefoxitin is used as a surrogate for *mec*A-mediated oxacillin resistance. Isolates that test as *mec*A positive should be reported as oxacillin (not cefoxitin) resistant; other β-lactam agents should be reported as resistant or should not be reported. Because of the rare occurrence of oxacillin resistance mechanisms other than *mec*A, isolates that test as *mec*A-negative but for which the oxacillin MICs are resistant (MIC ≥ 4 µg/mL) should be reported as oxacillin resistant.		Perform vancomycin MIC using a validated MIC method to confirm reduced susceptibility.	Report isolates with inducible clindamycin resistance as "clindamycin resistant." A comment that "This isolate is presumed to be resistant based on detection of inducible clindamycin resistance. Clindamycin may still be effective in some patients." may be included.	
QC recommendations	*Staphylococcus aureus* ATCC® 29213 – positive *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923 – negative	*Staphylococcus aureus* ATCC® 29213 – Susceptible *Staphylococcus aureus* ATCC® 43300 – Resistant	*Staphylococcus aureus* ATCC® 29213 – *mec*A negative (MIC 1-4 µg/mL) *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923 – *mec*A negative (zone 23-29 mm) *Staphylococcus aureus* ATCC® 43300 – *mecA* positive (MIC > 4 µg/mL or zone ≤ 21 mm)		*Enterococcus faecalis* ATCC® 29212 – Susceptible *Enterococcus faecalis* ATCC® 51299 – Resistant	*Staphylococcus aureus* ATCC® 25923 for routine quality control of disks; See Table 3 for quality assessment recommendations.	*Staphylococcus aureus* ATCC® BAA-976 or *S. aureus* ATCC® 29213 – No growth *Staphylococcus aureus* ATCC® BAA-977 – Growth

Footnote

a. CAMHB = cation-adjusted Mueller-Hinton broth.

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Appendix C. Screening Tests for Beta-lactamase, *mec*A-Mediated Oxacillin Resistance Using Cefoxitin, and Inducible Clindamycin Resistance in Coagulase-Negative Staphylococci (except *Staphylococcus lugdunensis)*

Screen Test	Beta-Lactamase	*mecA*-Mediated Oxacillin Resistance Using Cefoxitin	Inducible Clindamycin Resistance	
Organism group	Coagulase-negative staphylococci[a] with penicillin MICs ≤ 0.12 µg/mL or zones ≥ 29 mm	Coagulase-negative staphylococci[a]	Coagulase-negative staphylococci[a] resistant to erythromycin and susceptible or intermediate to clindamycin.	
Test method	Nitrocefin-based test	Disk diffusion	Disk Diffusion	Broth microdilution
Medium	NA	Mueller-Hinton agar	Mueller-Hinton agar or blood agar purity plate used with MIC tests	CAMHB[b]
Antimicrobial concentration	NA	30-µg cefoxitin disk	15-µg erythromycin and 2-µg clindamycin disks spaced 15 mm apart	4 µg/mL erythromycin and 0.5 µg/mL clindamycin in same well
Inoculum	Induced growth (ie, growth taken from the zone margin surrounding an oxacillin or cefoxitin disk test)	Standard disk diffusion procedure	Standard disk diffusion procedure or heavily inoculated area of purity plate	Standard broth microdilution procedure
Incubation conditions	Room temperature	33 - 35 °C; ambient air (Testing at temperatures above 35 °C may not detect MRS.)	35 ± 2 °C; ambient air	35 ± 2 °C; ambient air
Incubation length	Up to 1 hour for nitrocefin-based test or follow manufacturer's directions.	24 hours (may be reported after 18 hours if resistant)	16 – 18 hours	18 – 24 hours

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Appendix C. (Continued)

Screen Test	Beta-Lactamase	*mec*A-Mediated Oxacillin Resistance Using Cefoxitin	Inducible Clindamycin Resistance	
Results	Nitrocefin-based test: conversion from yellow to red/pink = β-lactamase positive.	≤ 24 mm = *mec*A positive; ≥ 25 mm = *mec*A negative.	Flattening of the disk adjacent to the erythromycin disk (referred to as a "D" zone) = inducible clindamycin resistance. Hazy growth within the zone of inhibition around clindamycin = clindamycin resistance, even if no D zone is apparent.	any growth = inducible clindamycin resistance; no growth = no inducible clindamycin resistance.
Further testing and reporting	β-lactamase-positive staphylococci are resistant to penicillin, amino-, carboxy- and ureidopenicillins.	Cefoxitin is used as a surrogate for *mec*A-mediated oxacillin resistance. Isolates that test as *mec*A positive should be reported as oxacillin (not cefoxitin) resistant; other β-lactam agents should be reported as resistant or should not be reported. Because of the rare occurrence of resistance mechanisms other than *mec*A, isolates that test as *mec*A-negative but for which the oxacillin MICs are resistant (MIC ≥ 0.5 µg/mL) should be reported as oxacillin resistant.	Report isolates with inducible clindamycin resistance as "clindamycin resistant." A comment that "This isolate is presumed to be resistant based on detection of inducible clindamycin resistance. Clindamycin may still be effective in some patients." may be included.	
QC recommendations	*Staphylococcus aureus* ATCC® 29213 – positive *Staphylococcus aureus* ATCC® 25923 – negative	*Staphylococcus aureus* ATCC® 25923 – *mec*A negative (zone 23-29 mm) *Staphylococcus aureus* ATCC® 43300 – *mec*A positive (zone ≤ 21 mm)	*Staphylococcus aureus* ATCC® 25923 for routine quality control of disks; see Table 3 for quality assessment recommendations.	*Staphylococcus aureus* ATCC® BAA-976 or *S. aureus* ATCC® 29213 – No growth *Staphylococcus aureus* ATCC® BAA-977 – Growth

Footnotes

a. except *S. lugdunensis*
b. CAMHB = cation-adjusted Mueller-Hinton broth

Appendix C
Screening Tests for Coagulase-negative Staphylococci

Appendix D. Screening Tests for High-Level Aminoglycoside Resistance (HLAR) and Vancomycin Resistance in *Enterococcus* spp.

Screen Test	Gentamicin HLAR			Streptomycin HLAR			Vancomycin Resistance
Test Method	Disk diffusion	Broth microdilution	Agar dilution	Disk diffusion	Broth microdilution	Agar dilution	Agar dilution
Medium	Mueller-Hinton agar	BHI[a] broth	BHI[a] agar	Mueller-Hinton agar	BHI[a] broth	BHI[a] agar	BHI[a] agar
Antimicrobial concentration	120-µg gentamicin disk	Gentamicin, 500 µg/mL	Gentamicin, 500 µg/mL	300-µg streptomycin disk	Streptomycin, 1000 µg/mL	Streptomycin, 2000 µg/mL	Vancomycin, 6 µg/mL
Inoculum	Standard disk diffusion recommendations	Standard broth dilution recommendations	10 µL of a 0.5 McFarland suspension spotted onto agar surface	Standard disk diffusion recommendations	Standard broth dilution recommendations	10 µL of a 0.5 McFarland suspension spotted onto agar surface	1 – 10 µL of a 0.5 McFarland suspension spotted onto agar surface
Incubation conditions	35 ± 2 °C; ambient air	35 ± 2 °C; ambient air	35 ± 2 °C; ambient air	35 ± 2 °C; ambient air	35 ± 2 °C; ambient air	35 ± 2 °C; ambient air	35 ± 2 °C; ambient air
Incubation length	16 – 18 hours	24 hours	24 hours	16 – 18 hours	24 – 48 hours (if susceptible at 24 hours, reincubate)	24 – 48 hours (if susceptible at 24 hours, reincubate)	24 hours
Results	6 mm = Resistant; 7 – 9 mm = Inconclusive; ≥ 10 mm = Susceptible. MIC correlates: R = > 500 µg/mL S = ≤ 500 µg/mL	Any growth = Resistant	>1 colony = Resistant	6 mm = Resistant; 7 – 9 mm = Inconclusive; ≥ 10 mm = Susceptible MIC correlates: R = > 1000 µg/mL (broth) and > 2000 µg/mL (agar); S = ≤ 500 µg/mL (broth) and ≤ 1000 µg/mL (agar)	Any growth = Resistant	>1 colony = Resistant	>1 colony = presumptive vancomycin resistance
Further Testing and Reporting	Resistant: will not be synergistic with cell-wall-active agent (eg, ampicillin, penicillin, and vancomycin). Susceptible: will be synergistic with cell-wall-active agent (eg, ampicillin, penicillin, and vancomycin) that is also susceptible. Inconclusive: perform an agar dilution or broth microdilution test to confirm.						Perform vancomycin MIC and test for motility and pigment production to distinguish species with acquired resistance (VanA and VanB) from those with intrinsic, intermediate-level resistance to vancomycin (VanC), such as *E. gallinarum* and *E. casseliflavus*, which often grow on the vancomycin screen plate. In contrast to other enterococci, *E. casseliflavus* and *E. gallinarum* with vancomycin MICs of 8-16 µg/mL (intermediate) differ from vancomycin-resistant enterococci for infection control purposes.
QC Recommendations	*E. faecalis* ATCC® 29212: 16 – 23 mm	*E. faecalis* ATCC® 29212 – Susceptible *E. faecalis* ATCC® 51299 – Resistant	*E. faecalis* ATCC® 29212 – Susceptible *E. faecalis* ATCC® 51299 – Resistant	*E. faecalis* ATCC® 29212: 14 – 20 mm	*E. faecalis* ATCC® 29212 – Susceptible *E. faecalis* ATCC® 51299 – Resistant	*E. faecalis* ATCC® 29212 – Susceptible *E. faecalis* ATCC® 51299 – Resistant	*E. faecalis* ATCC® 29212 – Susceptible *E. faecalis* ATCC® 51299 – Resistant

Footnote

a. BHI = Brain Heart Infusion; even though not as widely available, dextrose phosphate agar and broth have been shown in limited testing to perform comparably.

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

This page is intentionally left blank.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Appendix E. Suggestions for Verification of Antimicrobial Susceptibility Test Results and Confirmation of Organism Identification

This table reflects the drugs listed for testing against the respective organisms in Tables 2A to 2J in M100 and gives some examples to consider for verification protocols at a given institution. The list includes phenotypes that: 1) have never been documented; 2) are uncommon in some geographic areas; and/or 3) represent results that could easily occur from technical errors and which may have significant clinical consequences.

NOTE: For critical results, communicate preliminary findings to the laboratory director or supervisor.

Organism or Group	Category I[a] Phenotypes that have not been reported, are uncommon, and/or result from technical errors	Category II[b] Phenotypes that may be uncommon at a given institution and/or result from technical errors
Gram-negative organisms		
Enterobacteriaceae (any)	carbapenem - I or R	amikacin - R fluoroquinolone - R
Citrobacter freundii *Enterobacter* spp. *Serratia marcescens*	ampicillin, cefazolin, or cephalothin - S	
Escherichia coli		ESBL confirmed positive
Klebsiella spp.	ampicillin - S	ESBL confirmed positive
Proteus vulgaris *Providencia* spp.	ampicillin - S	
Salmonella spp.		3rd-generation cephalosporin - I or R[d] fluoroquinolone I or R or nalidixic acid - R[d]
Pseudomonas aeruginosa		concurrent gentamicin and tobramycin and amikacin - R
Stenotrophomonas maltophilia	carbapenem - S	trimethoprim-sulfamethoxazole - R
Haemophilus influenzae	aztreonam - NS carbapenem - NS 3rd-generation cephalosporin[c] - NS fluoroquinolone - NS	ampicillin - R and β-lactamase-negative amoxicillin-clavulanic acid-R
Neisseria gonorrhoeae	3rd-generation cephalosporin - NS	fluoroquinolone - R
Neisseria meningitidis	azithromycin - NS 3rd-generation cephalosporin[c] - NS meropenem[c] - NS minocycline[c] - NS chloramphenicol - I or R fluoroquinolones - I or R rifampin - I or R	
Any organism	Resistant to all agents routinely tested	

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Appendix E. (Continued)

Organism or Group	Category I[a] Phenotypes that have not been reported, are uncommon, and/or result from technical errors	Category II[b] Phenotypes that may be uncommon at a given institution and/or result from technical errors
Gram-positive organisms		
Enterococcus spp.	daptomycin - NS	vancomycin - R
Enterococcus faecalis	ampicillin or penicillin - R daptomycin - NS linezolid - R quinupristin-dalfopristin - S	high-level aminoglycoside - R (particularly if isolate from sterile body site)
Enterococcus faecium	daptomycin - NS linezolid - R	high-level aminoglycoside - R (particularly if isolate from sterile body site) quinupristin-dalfopristin - R
Staphylococcus aureus	daptomycin - NS linezolid - NS quinupristin-dalfopristin - I or R vancomycin - I or R	oxacillin - R
Staphylococcus, coagulase-negative	daptomycin - NS linezolid - NS vancomycin - I or R	
Streptococcus pneumoniae	fluoroquinolone - R linezolid[c] - NS vancomycin[c] - NS	penicillin - R 3rd-generation cephalosporin - R
Streptococcus, beta group	ampicillin or penicillin[c] - NS 3rd-generation cephalosporin[c] - NS daptomycin[c] - NS linezolid[c] - NS vancomycin[c] - NS	
Streptococcus, viridans group	daptomycin[c] - NS linezolid - NS vancomycin[c] - NS	penicillin - I or R
Any organism	Resistant to all agents routinely tested	

Footnotes

[a]Category I

When results listed in this category are observed on individual patient isolates, they should be verified by one or more of the following:

1. Ensuring the unusual results are not due to transcription errors, contamination, or use of a defective panel, plate, or card.
2. Checking previous reports on the patient to determine if the isolate was encountered and verified earlier.
3. Confirming the identification of the isolate.
4. Repeating the susceptibility test to confirm results. Sometimes, it is helpful to use an alternative test method for the repeat test.
5. For isolates that show results other than susceptible for those antimicrobial agents for which only susceptible interpretive criteria are provided in Tables 2A to 2J (listed with an "NS" above) and for staphylococci with vancomycin-intermediate or vancomycin-resistant results: 1) confirm the organism identification; 2) confirm the antimicrobial susceptibility test results; 3) save the isolate; and 4) submit the isolate to a reference laboratory that will test it by a CLSI reference dilution method.

[b] Category II

When results listed in this category are observed on individual patient isolates, the verification steps as outlined for Category I should be considered if the resistance is uncommon in a given institution.

[c] For these antimicrobial agent/organism combinations, resistance has not been documented to date.

[d] When submitting reports to a public health laboratory, include antimicrobial susceptibility results for *Salmonella* spp. that are intermediate or resistant to 3rd-generation cephalosporins and/or intermediate or resistant to fluoroquinolone or resistant to nalidixic acid.

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Glossary I (Part 1). β-lactams: Class and Subclass Designation and Generic Name

Antimicrobial Class	Antimicrobial Subclass	Agents Included; Generic Names
penicillins[e]	penicillin[a]	penicillin
	aminopenicillin[a]	amoxicillin ampicillin
	ureidopencillin[a]	azlocillin mezlocillin piperacillin
	carboxypenicillin[a]	carbenicillin ticarcillin
	penicillinase-stable penicillins[b]	cloxacillin dicloxacillin methicillin nafcillin oxacillin
	amidinopenicillin	mecillinam
β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations		amoxicillin-clavulanic acid ampicillin-sulbactam piperacillin-tazobactam ticarcillin-clavulanic acid
cephems (parenteral)	cephalosporin I[c,e]	cefazolin cephalothin cephapirin cephradine
	cephalosporin II[c,e]	cefamandole cefonicid cefuroxime (sodium)
	cephalosporin III[c,e]	cefoperazone cefotaxime ceftazidime ceftizoxime ceftriaxone
	cephalosporin IV[c,e]	cefepime
		ceftaroline ceftobiprole
	cephamycin[d]	cefmetazole cefotetan cefoxitin
	oxacephem	moxalactam
cephems (oral)	cephalosporin[e]	cefaclor cefadroxil cefdinir cefditoren cefetamet cefixime cefpodoxime cefprozil ceftibuten cefuroxime (axetil) cephalexin cephradine
	carbacephem	loracarbef
monobactams[e]		aztreonam
penems	carbapenem	doripenem ertapenem imipenem meropenem
	penem	faropenem

[a] Penicillinase-labile; hydrolyzed by staphylococcal penicillinase.

[b] Not hydrolyzed by staphylococcal penicillinase.

[c] Cephalosporin I, II, III, and IV are sometimes referred to as 1st-, 2nd-, 3rd, and 4th-generation cephalosporins, respectively. Cephalosporin III and IV are also referred to as "extended-spectrum cephalosporins." This does not imply activity against ESBL-producing gram-negative bacteria.

[d] Although often referred to as a 2nd-generation cephalosporin, cephamycins are not included with the other cephalosporins with regard to reporting of ESBL-producing strains.

[e] For all confirmed ESBL-producing strains, the test interpretation should be reported as resistant for this antimicrobial class or subclass.

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Glossary I (Part 2). Non-β-lactams: Class and Subclass Designation and Generic Name

Antimicrobial Class	Antimicrobial Subclass	Agents Included; Generic Names
aminocyclitols		spectinomycin trospectinomycin
aminoglycosides		amikacin gentamicin kanamycin netilmicin streptomycin tobramycin
ansamycins		rifampin
quinolones	quinolone	cinoxacin garenoxacin nalidixic acid
	fluoroquinolone	ciprofloxacin clinafloxacin enoxacin fleroxacin gatifloxacin gemifloxacin grepafloxacin levofloxacin lomefloxacin moxifloxacin norfloxacin ofloxacin sparfloxacin trovafloxacin
folate pathway inhibitors		iclaprim sulfonamides trimethoprim trimethoprim-sulfamethoxazole
fosfomycins		fosfomycin
ketolides		telithromycin
lincosamides		clindamycin
lipopeptides		daptomycin
	polymyxins	colistin polymyxin B
macrolides		azithromycin clarithromycin dirithromycin erythromycin
nitrofurans		nitrofurantoin
nitroimidazoles		metronidazole
oxazolidinones		linezolid
glycopeptides	glycopeptide	vancomycin
	lipoglycopeptide	dalbavancin **oritavancin** teicoplanin telavancin
phenicols		chloramphenicol
streptogramins		quinupristin-dalfopristin
tetracyclines		doxycycline minocycline tetracycline
glycylcyclines		tigecycline

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Glossary II. Abbreviations/Routes of Administration/Drug Class for Antimicrobial Agents Listed in M100-S18

Antimicrobial Agent	Agent Abbreviation[a]	Routes of Administration[b]			Drug Class
		PO	IM	IV	
Amikacin	AN, AK, Ak, AMI, AMK		X	X	aminoglycoside
Amoxicillin	AMX, Amx, AMOX, AC	X			penicillin
Amoxicillin-clavulanic acid	AMC, Amc, A/C, AUG, Aug, XL, AML	X			β-lactam/β-lactamase inhibitor
Ampicillin	AM, Am, AMP	X	X	X	penicillin
Ampicillin-sulbactam	SAM, A/S, AMS, AB			X	β-lactam/β-lactamase inhibitor
Azithromycin	AZM, Azi, AZI, AZ	X		X	macrolide
Azlocillin	AZ, Az, AZL		X	X	penicillin
Aztreonam	ATM, AZT, Azt, AT, AZM			X	monobactam
Carbenicillin (indanyl salt) Carbenicillin	CB, Cb, BAR	X	 X	 X	penicillin
Cefaclor	CEC, CCL, Cfr, FAC, CF	X			cephem
Cefadroxil	CFR, FAD	X			cephem
Cefamandole	MA, CM, Cfm, FAM		X	X	cephem
Cefazolin	CZ, CFZ, Cfz, FAZ, KZ		X	X	cephem
Cefdinir	CDR, Cdn, DIN, CD, CFD	X			cephem
Cefditoren	CDN	X			cephem
Cefepime	FEP, Cpe, PM, CPM		X	X	cephem
Cefetamet	CAT, FET	X			cephem
Cefixime	CFM, FIX, Cfe, IX	X			cephem
Cefmetazole	CMZ, CMZS, CMT		X	X	cephem
Cefonicid	CID, Cfc, FON, CPO		X	X	cephem
Cefoperazone	CFP, Cfp, CPZ, PER, FOP, CP		X	X	cephem
Cefotaxime	CTX, TAX, Cft, FOT, CT		X	X	cephem
Cefotetan	CTT, CTN, Ctn, CTE, TANS, CN		X	X	cephem
Cefoxitin	FOX, CX, Cfx, FX		X	X	cephem
Cefpodoxime	CPD, Cpd, POD, PX	X			cephem
Cefprozil	CPR, CPZ, FP	X			cephem
Ceftaroline	CPT			X	cephem
Ceftazidime	CAZ, Caz, TAZ, TZ		X	X	cephem
Ceftibuten	CTB, TIB, CB	X			cephem
Ceftizoxime	ZOX, CZX, CZ, Cz, CTZ, TIZ		X	X	cephem
Ceftobiprole	BPR			X	cephem
Ceftriaxone	CRO, CTR, FRX, Cax, AXO, TX		X	X	cephem
Cefuroxime (axetil) Cefuroxime (sodium)	CXM, CFX, ROX, Crm, FUR, XM	X	 X	 X	cephem
Cephalexin	CN, LEX, CFL	X			cephem
Cephalothin	CF, Cf, CR, CL, CEP, CE, KF			X	cephem

©Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.

Glossary II. (Continued)

Antimicrobial Agent	Agent Abbreviation[a]	Routes of Administration[b]			Drug Class
		PO	IM	IV	
Cephapirin	CP, HAP		X	X	cephem
Cephradine	RAD, CH	X			cephem
Chloramphenicol	C, CHL, CL	X		X	phenicol
Cinoxacin	CIN, Cn	X			quinolone
Ciprofloxacin	CIP, Cp, CI	X		X	fluoroquinolone
Clarithromycin	CLR, CLM, CLA, Cla, CH	X			macrolide
Clinafloxacin	CFN, CLX, LF	X		X	fluoroquinolone
Clindamycin	CC, CM, CD, Cd, CLI, DA	X	X	X	lincosamide
Colistin	CL, CS, CT			X	lipopeptide
Dalbavancin	DAL			X	glycopeptide
Daptomycin	DAP			X	lipopeptide
Dicloxacillin	DX, DIC	X			penicillin
Dirithromycin	DTM, DT	X			macrolide
Doripenem	DOR			X	carbapenem
Ertapenem	ETP		X	X	carbapenem
Erythromycin	E, ERY, EM	X		X	macrolide
Faropenem	FAR, FARO	X			penem
Fleroxacin	FLE, Fle, FLX, FO	X		X	fluoroquinolone
Fosfomycin	FOS, FF, FO, FM	X			fosfomycin
Garenoxacin	GRN	X		X	quinolone
Gatifloxacin	GAT	X		X	fluoroquinolone
Gemifloxacin	GEM	X			fluoroquinolone
Gentamicin Gentamicin synergy	GM, Gm, CN, GEN GM500, HLG, Gms		X	X	aminoglycoside
Grepafloxacin	GRX, Grx, GRE, GP	X			fluoroquinolone
Iclaprim	ICL			X	folate pathway inhibitor
Imipenem	IPM, IMI, Imp, IP			X	carbapenem
Kanamycin	K, KAN, HLK, KM		X	X	aminoglycoside
Levofloxacin	LVX, Lvx, LEV, LEVO, LE	X		X	fluoroquinolone
Linezolid	LNZ, LZ, LZD	X		X	oxazolidinone
Lomefloxacin	LOM, Lmf	X			fluoroquinolone
Loracarbef	LOR, Lor, LO	X			cephem
Mecillinam	MEC	X			penicillin
Meropenem	MEM, Mer, MERO, MRP, MP			X	carbapenem
Methicillin	DP, MET, ME, SC		X	X	penicillin
Mezlocillin	MZ, Mz, MEZ		X	X	penicillin
Minocycline	MI, MIN, Min, MN, MNO, MC, MH	X		X	tetracycline
Moxalactam	MOX		X	X	cephem
Moxifloxacin	MXF	X		X	fluoroquinolone
Nafcillin	NF, NAF, Naf		X	X	penicillin
Nalidixic acid	NA, NAL	X			quinolone
Netilmicin	NET, Nt, NC		X	X	aminoglycoside
Nitrofurantoin	F/M, FD, Fd, FT, NIT, NI, F	X			nitrofurantoin
Norfloxacin	NOR, Nxn, NX	X			fluoroquinolone
Ofloxacin	OFX, OFL, Ofl, OF	X	X	X	fluoroquinolone
Oritavancin	ORI			X	**lipoglycopeptide**
Oxacillin	OX, Ox, OXS, OXA	X	X	X	penicillin

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Glossary II. (Continued)

Antimicrobial Agent	Agent Abbreviation[a]	Routes of Administration[b]			Drug Class
		PO	IM	IV	
Penicillin	P, PEN, PV	X	X	X	penicillin
Piperacillin	PIP, PI, PP, Pi		X	X	penicillin
Piperacillin-tazobactam	TZP, PTZ, P/T, PTc			X	β-lactam/β-lactamase inhibitor combination
Polymyxin B	PB			X	lipopeptide
Quinupristin-dalfopristin	SYN, Syn, QDA, RP			X	streptogramin
Rifampin	RA, RIF, Rif, RI, RD	X		X	ansamycin
Sparfloxacin	SPX, Sfx, SPA, SO	X			fluoroquinolone
Spectinomycin	SPT, SPE, SC		X	X	aminocyclitol
Streptomycin Streptomycin synergy	S, STR, StS, SM, ST2000, HLS		X	X	aminoglycoside
Sulfonamides	SSS, S3	X		X	folate pathway antagonist (some PO only)
Teicoplanin	TEC, TPN, Tei, TEI, TP, TPL		X	X	glycopeptide
Telavancin	TLV			X	glycopeptide
Telithromycin	TEL	X			ketolide
Tetracycline	TE, Te, TET, TC	X		X	tetracycline
Ticarcillin	TIC, TC, TI, Ti		X	X	penicillin
Ticarcillin-clavulanic acid	TIM, Tim, T/C, TCC, TLc			X	β-lactam/β-lactamase inhibitor
Tigecycline	TGC			X	glycylcycline
Tobramycin	NN, TM, TO, To, TOB		X	X	aminoglycoside
Trimethoprim	TMP, T, TR, W	X			folate pathway inhibitor
Trimethoprim-sulfamethoxazole	SXT, SxT, T/S, TS, COT	X		X	folate pathway inhibitor
Trospectinomycin			X	X	aminocyclitol
Trovafloxacin	TVA, Tva, TRV, TV	X		X	fluoroquinolone
Vancomycin	VA, Va, VAN	X		X	glycopeptide

[a] Abbreviations assigned to one or more diagnostic products in the United States. If no diagnostic product is available, abbreviation is that of the manufacturer.

[b] As available in the United States.

PO per OS (oral)
IM intramuscular
IV intravenous

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Glossary III. List of Identical Abbreviations Used for More Than One Antimicrobial Agent in US Diagnostic Products

Agent Abbreviation	Antimicrobial Agents for Which Respective Abbreviation Is Used
AZM	Azithromycin, Aztreonam
AZ	Azithromycin, Azlocillin
CB, Cb	Ceftibuten, Carbenicillin
CFR, Cfr	Cefaclor, Cefadroxil
CF, Cf	Cefaclor, Cephalothin
CM	Clindamycin, Cefamandole
CFM, Cfm	Cefixime, Cefamandole
CZ, Cz	Ceftizoxime, Cefazolin
CD, Cd	Clindamycin, Cefdinir
CPZ	Cefprozil, Cefoperazone
CP, Cp	Cephapirin, Cefoperazone, Ciprofloxacin
CN, Cn	Cephalexin, Cefotetan, Cinoxacin, Gentamicin
CFX, Cfx	Cefoxitin, Cefuroxime
CL	Cephalothin, Chloramphenicol
CH	Clarithromycin, Cephradine
DX	Doxycycline, Dicloxacillin
FO	Fleroxacin, Fosfomycin
SC	Spectinomycin, Methicillin
SO	Sparfloxacin, Oxacillin
TC	Tetracycline, Ticarcillin

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Clinical and Laboratory Standards Institute consensus procedures include an appeals process that is described in detail in Section 8 of the Administrative Procedures. For further information, contact CLSI or visit our website at www.clsi.org.

Summary of Comments and Subcommittee Responses

M100-S17: *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Seventeenth Informational Supplement*

1. Enterobacteriaceae and non-Enterobacteriaceae, which are resistant to tobramycin and amikacin, but susceptible to gentamicin, most likely produce a 6'-acetyltransferase. In this case, only one of the three gentamicin subcomponents, C_1, remains active. Since the fraction of C_1 varies between gentamicin formulations and C_1 appears to have different pharmacokinetics than gentamicin as a whole (*Antimicrob Agents Chemother*. 1975;7:328-332), are the gentamicin interpretive breakpoints accurate in these cases? Would it be reasonable to report gentamicin susceptibility as intermediate or provide a comment that gentamicin activity is uncertain?

- **The comment raises an interesting question. We have no data that would support changing the susceptible category to intermediate or resistant. However, when an isolate that is gentamicin susceptible and amikacin and tobramycin resistant is encountered and selective reporting is used by the laboratory, the susceptibility to gentamicin and the resistance to tobramycin and amikacin should all be reported.**

2. In CLSI document M2, the disk diffusion zone diameters are given with equivalent MIC breakpoints. In the overwhelming majority, they correspond to the MIC breakpoints printed in M7. However, some do not (eg, gentamicin and amikacin with Enterobacteriacea`e). Do you know why? Also, some of the MIC equivalent breakpoints are not in doubling dilutions (eg, in Table 2A, the S equivalent breakpoints are ≤ 12 µg/mL for netilmicin and ≤ 6 µg/mL for kanamycin). Why?

- **MIC equivalents listed in M2 represent the MIC breakpoints used when the zone size diameters were first determined. Since the M2 document was published before the M7 document, occasional discrepancies have existed and these mainly occur with the aminoglycosides. It is the intention of the subcommittee to reexamine these discrepancies in the near future.**

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Related CLSI Reference Materials*

M2-A9 **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Ninth Edition (2006).** This standard contains the current CLSI-recommended methods for disk susceptibility testing, criteria for quality control testing, and updated tables for interpretive zone diameters.

M7-A7 **Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Seventh Edition (2006).** This standard addresses reference methods for the determination of minimal inhibitory concentrations (MICs) of aerobic bacteria by broth macrodilution, broth microdilution, and agar dilution.

M11-A7 **Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria; Approved Standard—Seventh Edition (2007).** This standard provides reference methods for the determination of minimal inhibitory concentrations (MICs) of anaerobic bacteria by broth microdilution and agar dilution.

M23-A2 **Development of *In Vitro* Susceptibility Testing Criteria and Quality Control Parameters; Approved Guideline—Second Edition (2001).** This document addresses the required and recommended data needed for the selection of appropriate interpretive standards and quality control guidelines for antimicrobial agents.

M31-A2 **Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Approved Standard—Second Edition (2002).** This document provides the currently recommended techniques for antimicrobial agent disk and dilution susceptibility testing, criteria for quality control testing, and interpretive criteria for veterinary use.

M37-A2 **Development of *In Vitro* Susceptibility Testing Criteria and Quality Control Parameters for Veterinary Antimicrobial Agents; Approved Guideline—Second Edition (2002).** This document addresses the required and recommended data needed for selection of appropriate interpretive standards and quality control guidance for new veterinary antimicrobial agents.

M39-A2 **Analysis and Presentation of Cumulative Antimicrobial Susceptibility Test Data; Approved Guideline—Second Edition (2005).** This document describes methods for recording and analysis of antimicrobial susceptibility test data, consisting of cumulative and ongoing summaries of susceptibility patterns of clinically significant microorganisms.

* Proposed-level documents are being advanced through the Clinical and Laboratory Standards Institute consensus process; therefore, readers should refer to the most current editions.

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

NOTES

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

NOTES

©*Clinical and Laboratory Standards Institute. All rights reserved.*

Active Membership
(as of 1 October 2007)

Sustaining Members

Abbott
American Association for Clinical Chemistry
AstraZeneca Pharmaceuticals
Bayer Corporation
BD
Beckman Coulter, Inc.
bioMérieux, Inc.
CLMA
College of American Pathologists
GlaxoSmithKline
Ortho-Clinical Diagnostics, Inc.
Pfizer Inc
Roche Diagnostics, Inc.

Professional Members

American Academy of Family Physicians
American Association for Clinical Chemistry
American Association for Laboratory Accreditation
American Association for Respiratory Care
American Chemical Society
American College of Medical Genetics
American Medical Technologists
American Society for Clinical Laboratory Science
American Society for Microbiology
American Type Culture Collection
ASCP
Associazione Microbiologi Clinici Italiani (AMCLI)
Canadian Society for Medical Laboratory Science
COLA
College of American Pathologists
College of Medical Laboratory Technologists of Ontario
College of Physicians and Surgeons of Saskatchewan
Elkin Simson Consulting Services
ESCMID
Family Health International
Hong Kong Accreditation Service Innovation and Technology Commission
International Federation of Biomedical Laboratory Science
International Federation of Clinical Chemistry
Italian Society of Clinical Biochemistry and Clinical Molecular Biology
JCAHO
JCCLS
National Society for Histotechnology, Inc.
Ontario Medical Association Quality Management Program-Laboratory Service
RCPA Quality Assurance Programs PTY Limited
SDS Pathology
SIMeL
Sociedad Espanola de Bioquimica Clinica y Patologia Molecular
Sociedade Brasileira de Analises Clinicas
Sociedade Brasileira de Patologia Clinica
Turkish Society of Microbiology
Washington G2 Reports
World Health Organization

Government Members

Association of Public Health Laboratories
BC Centre for Disease Control
Centers for Disease Control and Prevention
Centers for Disease Control and Prevention – Tanzania
Centers for Medicare & Medicaid Services
Centers for Medicare & Medicaid Services/CLIA Program
Chinese Committee for Clinical Laboratory Standards
FDA Center for Devices and Radiological Health
FDA Center for Veterinary Medicine
Health Canada
Massachusetts Department of Public Health Laboratories
Ministry of Health and Social Welfare - Tanzania
National Center of Infectious and Parasitic Diseases (Bulgaria)
National Health Laboratory Service (South Africa)
National Institute of Standards and Technology
National Pathology Accreditation Advisory Council (Australia)
New York State Department of Health
Ontario Ministry of Health
Pennsylvania Dept. of Health
Saskatchewan Health-Provincial Laboratory
Scientific Institute of Public Health
University of Iowa, Hygienic Lab

Industry Members

3M Medical Division
AB Biodisk
Abbott
Abbott Diabetes Care
Abbott Molecular Inc.
Abbott Point of Care Inc.
Access Genetics
Acupath
AdvaMed
Advanced Liquid Logic
Advancis Pharmaceutical Corporation
Advantage Bio Consultants, Inc.
Affymetrix, Inc. (Santa Clara, CA)
Affymetrix, Inc. (W. Sacramento, CA)
Agilent Technologies/Molecular Diagnostics
Ammirati Regulatory Consulting
Anapharm, Inc.
Anna Longwell, PC
Aptium Oncology
Arpida Ltd
A/S Rosco
Astellas Pharma
AstraZeneca Pharmaceuticals
Aviir, Inc.
Axis-Shield PoC AS
Bayer Corporation – West Haven, CT
Bayer HealthCare, LLC, Diagnostics Div. – Elkhart, IN
BD
BD Biosciences – San Jose, CA
BD Diagnostic Systems
BD Vacutainer Systems
Beckman Coulter, Inc.
Beth Goldstein Consultant (PA) Bioanalyse, Ltd.
Bio-Development S.r.l.
Biomedia Laboratories SDN BHD
bioMérieux, Inc. (MO)
bioMérieux, Inc. (NC)
Bio-Rad Laboratories, Inc. – France
Bio-Rad Laboratories, Inc. – Irvine, CA
Bio-Rad Laboratories, Inc. – Plano, TX
Blaine Healthcare Associates, Inc.
Braun Biosystems, Inc.
Canon U.S. Life Sciences, Inc.
Cempra Pharmaceuticals, Inc.
Center for Measurement Standards/ITRI
Cepheid
Chen & Chen, LLC (IQUUM)
Comprehensive Cytometric Consulting
Control Lab
Copan Diagnostics Inc.
Cosmetic Ingredient Review
Cubist Pharmaceuticals
Cumbre Inc.
Dade Behring Inc. – Cupertino, CA
Dade Behring Inc. – Deerfield, IL
Dade Behring Inc. – Glasgow (Newark, DE)
Dade Behring Inc. Marburg GmbH (Germany)
Dade Behring Inc. – Sacramento, CA
Dahl-Chase Pathology Associates PA
David G. Rhoads Associates, Inc.
Diagnostic Products Corporation
Diagnostica Stago
Docro, Inc.
DX Tech
Eiken Chemical Company, Ltd.
Elanco Animal Health
Electa Lab s.r.l.
Eurofins Medinet
Future Diagnostics B.V.
Genomic Health, Inc.
Gen-Probe
Genzyme Clinical Specialty Laboratory
Genzyme Diagnostics
GlaxoSmithKline
GlucoTec, Inc.
Greiner Bio-One Inc.
HistoGenex N.V.
Immunicon Corporation
Instrumentation Laboratory
Japan Assn. of Clinical Reagents Industries
Johnson & Johnson Pharmaceutical Research and Development, L.L.C.
Kaiser Permanente
K.C.J. Enterprises
Laboratory Specialists, Inc.
LifeScan, Inc. (a Johnson & Johnson Company)
Maine Standards Company, LLC
Medical Device Consultants, Inc.
Merck & Company, Inc.
Micromyx, LLC
MicroPhage
Monogen, Inc.
MultiPhase Solutions, Inc.
Nanogen
Nanogen, Point-of-Care Diagnostics Div.
Nihon Koden Corporation
Nissui Pharmaceutical Co., Ltd.
NJK & Associates, Inc.
NovaBiotics (Aberdeen, UK)
Novartis Institutes for Biomedical Research
Nucryst Pharmaceuticals
Olympus America, Inc.
Optimer Pharmaceuticals, Inc.
Orion Genomics, LLC
Ortho-Clinical Diagnostics, Inc. (Rochester, NY)
Oxonica (UK)
Panaceapharma Pharmaceuticals
Paratek Pharmaceuticals, Inc.
Pathology Services Inc.
Pathwork Diagnostics
Pfizer Animal Health
Pfizer Inc
Phadia AB
PlaCor, Inc
Powers Consulting Services
ProSource Consulting, Inc.
QSE Consulting
Radiometer America, Inc.
RCC CIDA S. A.
Replidyne
Rib-X Pharmaceuticals
Roche Diagnostics GmbH
Roche Diagnostics, Inc.
Roche Diagnostics Ltd
Roche Molecular Systems
Sanofi Pasteur
Sarstedt, Inc.
Schering Corporation
Seneca Medical, Inc.
Sequenom, Inc.
Siemens Medical Solutions Diagnostics
Sphere Medical Holding Limited
Stirling Medical Innovations
Streck Laboratories, Inc.
Sysmex America, Inc. (Mundelein, IL)
Sysmex Corporation (Japan)
Tethys Bioscience, Inc.
The Clinical Microbiology Institute
TheraDoc
Therapeutic Monitoring Services, LLC
Theravance Inc.
Third Wave Technologies, Inc.
Thrombodyne, Inc.
Transasia Bio-Medicals Limited
Trek Diagnostic Systems
Watin-Biolife Diagnostics and Medicals
Wyeth Research
XDX, Inc.
YD Consultant

Trade Associations

AdvaMed
Japan Association of Clinical Reagents Industries (Tokyo, Japan)

Associate Active Members

3rd Medical Group (AK)
5th Medical Group/SGSL (ND)
22 MDSS (KS)
48th Medical Group/MDSS (APO, AE)
59th MDW/859th MDTS/MTL Wilford Hall Medical Center (TX)
Acadiana Medical Labs, Ltd
ACL Laboratories (IL)
ACL Laboratories (WI)
Adams County Hospital (OH)
Air Force Institute for Operational Health (TX)
Akron's Children's Hospital (OH)
Alameda County Medical Center
Albany Medical Center Hospital (NY)
Albemarle Hospital (NC)
Alfred I. du Pont Hospital for Children
All Children's Hospital (FL)
Allegheny General Hospital (PA)
Alta Bates Summit Medical Center (CA)
American Hospital Dubai (UAE)
American University of Beirut Medical Center (NY)
Anne Arundel Medical Center (MD)
Antelope Valley Hospital District (CA)
Arkansas Dept of Health
Arkansas Methodist Medical Center (AR)
Arnett Clinic, LLC (IN)
Asan Medical Center (Seoul)
Asante Health System (OR)
Asiri Group of Hospitals Ltd.
Asociacion Espanola Primera de Socorros Mutuos (Uruguay)
Aspirus Wausau Hospital (WI)
Atlantic Health Sciences Corp.
Augusta Medical Center (VA)
Aultman Hospital (OH)
Azienda Ospedale Di Lecco (Italy)
Baptist Hospital for Women (TN)
Baptist Hospital of Miami (FL)
Bassett Army Community Hospital (AK)
Bay Regional Medical Center (MI)
BayCare Health System (FL)
Baylor Health Care System (TX)
Baystate Medical Center (MA)
B.B.A.G. Ve U. AS., Duzen Laboratories (Turkey)
BC Biomedical Laboratories (Surrey, BC, Canada)
Beebe Medical Center (DE)
Belfast HSS Trust, Royal Victoria Hospital (Belfast)
Beloit Memorial Hospital (WI)
Bonnyville Health Center (Canada)
Boston Medical Center (MA)
Boulder Community Hospital (CO)
Brantford General Hospital (CT)
Bridgeport Hospital (CT)
British Columbia Cancer Agency – Vancouver Cancer Center (BC, Canada)
Bronson Methodist Hospital (MI)
Broward General Medical Center (FL)
Cadham Provincial Laboratory – MB Health (Canada)
Calgary Laboratory Services (Calgary, AB, Canada)
California Pacific Medical Center (CA)
Cambridge Health Alliance (MA)
Camden Clark Memorial Hospital (WV)
Cape Breton Healthcare Complex (Canada)
Cape Cod Hospital (MA)
Cape Fear Valley Medical Center Laboratory (NC)
Capital Health/QE II Health Sciences Centre (Nova Scotia)
Capital Health - Regional Laboratory Services (Canada)
Capital Health System Fuld (NJ)
Capital Health System Mercer Campus (NJ)
Carpermor S.A. de C.V. (Mexico)
Catholic Health Initiatives (KY)
Cavan General Hospital (Ireland)
CDC/HIV (APO, AP)
Central Arkansas Veterans Healthcare System (AR)
Central Baptist Hospital (KY)
Central Kansas Medical Center (KS)
Central Processing & Receiving (BC)
Central Texas Veterans Health Care System (TX)
Centralized Laboratory Services (NY)
Centre Hospitalier Anna-Laberge (Canada)
Centura – Villa Pueblo (CO)
Chaleur Regional Hospital (Canada)
Chang Gung Memorial Hospital (Taiwan)
Changhua Christian Hospital (Taiwan)
Chesapeake General Hospital (VA)
Chester County Hospital (PA)
Children's Healthcare of Atlanta (GA)
Children's Hospital (OH)
Children's Hospital & Research Center at Oakland (CA)
Children's Hospital Medical Center (OH)
Children's Memorial Hospital (IL)
Childrens Hosp.- Kings Daughters (VA)
Childrens Hospital Los Angeles (CA)
Childrens Hospital of Wisconsin (WI)
Chilton Memorial Hospital (NJ)
Christiana Care Health Services (DE)

City of Hope National Medical Center (CA)
City of Houston Dept of Health (TX)
Clarian Health – Clarian Pathology Laboratory (IN)
Cleveland Clinic Health System Eastern Region (OH)
Clinical Labs of Hawaii (HI)
CLSI Laboratories, Univ. Pittsburgh Med. Ctr. (PA)
Colchester East Hants Health Authority (Canada)
Commonwealth of Kentucky
Community Care 5 (OH)
Community Hospital (IN)
Community Hospital of the Monterey Peninsula (CA)
Community Memorial Hospital (WI)
Connolly Hospital (Ireland)
Consultants Laboratory of WI LLC (WI)
Contra Costa Regional Medical Center (CA)
Cook Children's Medical Center (TX)
Cork University Hospital (Ireland)
Corpus Christi Medical Center (TX)
Covance CLS (IN)
Covance Evansville (IN)
Creighton Medical Laboratories (NE)
Creighton University Medical Center (NE)
Cross Cancer Institute (Canada)
Dahl-Chase Pathology Associates PA (ME)
Darwin Library NT Territory Health Services (Australia)
David Grant Medical Center (CA)
Daviess Community Hospital (IN)
Deaconess Medical Center (WA)
Dekalb Memorial Hospital (IN)
DeWitt Healthcare Network (USA Meddac) (VA)
DHHS NC State Lab of Public Health (NC)
Diagnostic Laboratory Services, Inc. (HI)
Diagnostic Services of Manitoba (Canada)
Diagnósticos da América S/A (Sao Paulo)
Dianon Systems/Lab Corp. (OK)
Dimensions Healthcare System (MD)
Dr. Everette Chalmers Regional Hospital (NB)
Driscoll Children's Hospital (TX)
DSI of Bucks County (PA)
DUHS Clinical Laboratories (NC)
Dundy County Hospital (NE)
Durham VA Medical Center (NC)
Dwight D. Eisenhower Medical Center (KS)
East Central Health (Canada)
East Georgia Regional Medical Center (GA)
Eastern Health Pathology (Australia)
Edward Hospital (IL)
Effingham Hospital (GA)
Eliza Coffee Memorial Hospital (AL)
EMH Regional Medical Center (OH)
Emory University Hospital (GA)
Evangelical Community Hospital (PA)
Evanston Hospital (IL)
Exeter Hospital (NH)
Federal Medical Center (MN)
Firelands Regional Medical Center (OH)
First Health of the Carolinas Moore Regional Hospital (NC)
Fisher-Titus Memorial Hospital (OH)
Flaget Memorial Hospital (KY)
Fletcher Allen Health Care (VT)
Fleury S.A. (Brazil)
Florida Hospital (FL)
Foote Hospital (MI)
Fort St. John General Hospital (Canada)
Forum Health Northside Medical Center (OH)
Fox Chase Cancer Center (PA)
Gamma-Dynacare Laboratories (Canada)
Gamma Dynacare Medical Laboratories (Ontario, Canada)
Garden City Hospital (MI)
Garfield Medical Center (CA)
Geisinger Medical Center (Danville, PA)
Genesis Healthcare System (OH)
George Washington University Hospital (DC)
Good Samaritan Hospital (NE)
Good Samaritan Hospital (OH)
Good Shepherd Medical Center (TX)
Grand Strand Reg. Medical Center (SC)
Gundersen Lutheran Medical Center (WI)
Haga Teaching Hospital (Netherlands)
Hagerstown Medical Laboratory (MD)
Hamad Medical Corporation (Qatar)
Hamilton Regional Laboratory Medicine Program (Canada)
Hanover General Hospital (PA)
Harford Memorial Hospital (MD)
Harris Methodist Fort Worth (TX)
Hartford Hospital (CT)
Health Network Lab (PA)
Health Partners Laboratories Bon Secours Richmond (VA)
Health Waikato (New Zealand)
Heartland Health (MO)
Heidelberg Army Hospital (APO, AE)
Hema-Quebec (Canada)
Hennepin Faculty Association (MN)
Henry Ford Hospital (MI)
Henry Medical Center, Inc. (GA)
Hi-Desert Medical Center (CA)
Hoag Memorial Hospital Presbyterian (CA)
Holy Cross Hospital (MD)
Holy Family Medical Center (WI)
Holy Spirit Hospital (PA)
Hopital Cite de La Sante De Laval (Canada)
Hôpital Maisonneuve - Rosemont (Montreal, Canada)
Hôpital Sacré-Coeur de Montreal (Quebec, Canada)
Hopital Santa Cabrini Ospedale (Canada)
Hospital Albert Einstein (Brazil)
Hospital de Dirino Espirito Santa (Portugal)
Hôtel Dieu Grace Hospital Library (Windsor, ON, Canada)
Humility of Mary Health Partners (OH)
Hunter Area Pathology Service (Australia)
Hunterdon Medical Center (NJ)
Icon Laboratories (Ireland)
IGate Clinical Research Intl., Pvt., LTD (India)
Imelda Hospital (Belgium)
Indiana University - Chlamydia Laboratory (IN)
Institut fur Stand. und Dok. im Med. Lab. (Germany)
Institut National de Santé Publique du Quebec Centre de Doc. – INSPQ (Canada)
Institute Health Laboratories (PR)
Institute of Clinical Pathology and Medical Research (Australia)
Institute of Laboratory Medicine Landspitali Univ. Hospital (Iceland)
Institute of Medical & Veterinary Science (Australia)
Integrated Regional Laboratories South Florida (FL)
International Health Management Associates, Inc. (IL)
Ireland Army Community Hospital (KY)
IWK Health Centre (Canada)
Jackson Health System (FL)
Jackson Hospital & Clinic, Inc. (AL)
Jackson Purchase Medical Center (KY)
Jacobi Medical Center (NY)
John C. Lincoln Hospital (AZ)
John F. Kennedy Medical Center (NJ)
John H. Stroger, Jr. Hospital of Cook County (IL)
John Muir Medical Center (CA)
John T. Mather Memorial Hospital (NY)
Johns Hopkins Medical Institutions (MD)
Johns Hopkins University (MD)
Johnson City Medical Center (TN)
JPS Health Network (TX)
Kadlec Medical Center (WA)
Kaiser Permanente (CA)
Kaiser Permanente (MD)
Kaiser Permanente Medical Care (CA)
Kangnam St. Mary's Hospital (Korea)
Keller Army Community Hospital (NY)
Kenora-Rainy River Reg. Lab. Program (Canada)
King Fahad National Guard Health Affairs
King Abdulaziz Medical City (Saudi Arabia)
King Faisal Specialist Hospital (MD)
Kingston General Hospital (Canada)
Kosciusko Laboratory (IN)
Lab Medico Santa Luzia LTDA (Brazil)
LabCorp (NC)
Labette Health (KS)
Laboratory Alliance of Central New York (NY)
LabPlus Auckland Healthcare Services Limited (New Zealand)
Lafayette General Medical Center (LA)
Lakeland Regional Medical Center (FL)
Lancaster General Hospital (PA)
Landstuhl Regional Medical Center (APO, AE)
Langlade Memorial Hospital (WI)
Langley Air Force Base (VA)
LeBonheur Children's Medical Center (TN)
Legacy Laboratory Services (OR)
Lethbridge Regional Hospital (Canada)
Lewis-Gale Medical Center (VA)
L'Hotel-Dieu de Quebec (Quebec, Canada)
Licking Memorial Hospital (OH)
LifeBridge Health Sinai Hospital (MD)
Loma Linda University Medical (CA)
Long Beach Memorial Medical Center (CA)
Los Angeles County Public Health Lab. (CA)
Louis A Johnson Medical Center (WV)
Louisiana State University Medical Ctr. (LA)
Lourdes Hospital (KY)
Madison Parish Hospital (LA)
Magnolia Regional Health Center (MS)
Magruder Memorial Hospital (OH)
Main Line Clinical Laboratories, Inc. (PA)
Manipal AcuNova (India)
Marquette General Hospital (MI)
Marshfield Clinic (WI)
Martin Luther King, Jr. Harbor Hospital (CA)
Martin Memorial Health Systems (FL)
Mary Imogene Bassett Hospital (NY)
Marymount Medical Center (KY)
Massachusetts General Hospital (MA)
Massachusetts General Hospital Division of Laboratory Medicine (MA)
Maxwell Air Force Base (AL)
MDS Laboratories (Canada)
MDS Metro Laboratory Services (BC, Canada)
Meadows Regional Medical Center (GA)
Mease Countryside Hospital (FL)
Mease Dunedin Hospital (FL)
Medical Center Hospital (TX)
Medical Center of Louisiana at NO-Charity (LA)
Medical Centre Ljubljana (Slovenia)
Medical College of Virginia Hospital (VA)
Medical Specialists (IN)
Medical Univ. of South Carolina (SC)
MediCorp - Mary Washington Hospital (VA)
Memorial Health Center, Inc. (WI)
Memorial Hermann Healthcare System (TX)
Memorial Hospital (OH)
Memorial Hospital Miramar (FL)
Memorial Hospital Pembroke (FL)
Memorial Hospital West (FL)
Memorial Medical Center (PA)
Memorial Regional Hospital (FL)
Mercy Franciscan Mt. Airy (OH)
Mercy Hospital (ME)
Mercy Medical Center (CO)
Mercy Medical Center (OR)
Methodist Hospital (MN)
Methodist Hospital (TX)
Methodist Hospital Pathology (NE)
Metropolitan Medical Laboratory, PLC (IA)
Middletown Regional Hospital (OH)
Mississippi Baptist Medical Center (MS)
Mississippi Public Health Lab (MS)
Monmouth Medical Center (NJ)
Montefiore Medical Center (NY)
Morton Plant Hospital (FL)
Nassau County Medical Center (NY)
National Cancer Center (S. Korea)
National Cancer Institute (MD)
National Healthcare Group (Singapore)
National Institutes of Health, Clinical Center (MD)
National Naval Medical Center (MD)
National University Hospital Department of Laboratory Medicine (Singapore)
Naval Hospital Great Lakes (IL)
Naval Hospital Oak Harbor (WA)
New England Fertility Institute (CT)
New Lexington Clinic (KY)
New York City Department of Health and Mental Hygiene (NY)
New York-Presbyterian Hospital (NY)
New York University Medical Center (NY)
Newark Beth Israel Medical Center (NJ)
North Bay Hospital (FL)
North Carolina Baptist Hospital (NC)
North Coast Clinical Laboratory, Inc. (OH)
North Mississippi Medical Center (MS)
North Shore Hospital Laboratory (Auckland, New Zealand)
North Shore-Long Island Jewish Health System Laboratories (NY)
Northeast Pathologists, Inc. (MO)
Northridge Hospital Medical Center (CA)
Northwest Texas Hospital (TX)
Northwestern Memorial Hospital (IL)
Norton Healthcare (KY)
Ochsner Clinic Foundation (LA)
Ohio State University Hospitals (OH)
Oklahoma Heart Hospital, LLC (OK)
Onze Lieve Vrouw Ziekenhuis (Belgium)
Ordre Professionel Des Technologistes Medicaux Du Quebec (Quebec)
Orlando Regional Healthcare System (FL)
Our Lady of Lourdes Medical Center (NJ)
Our Lady of Lourdes Reg. Medical Ctr. (LA)
Our Lady of the Way Hospital (KY)
Our Lady's Hospital for Sick Children (Ireland)
Overlake Hospital Medical Center (WA)
Pathologists Associated (IN)
Pathology and Cytology Laboratories, Inc. (KY)
Pathology Associates Medical Laboratories (WA)
PCA Southeast (TN)
Pediatrix Screening Inc. (PA)
Pennsylvania Hospital (PA)
Penrose St. Francis Health Services (CO)
Perry County Memorial Hospital (IN)
Peterborough Regional Health Centre (Canada)
Physicians Reference Laboratory (KS)
Pitt County Memorial Hospital (NC)
PPD (KY)
Presbyterian Hospital of Dallas (TX)
Presbyterian/St. Luke's Medical Center (CO)
Princess Margaret Hospital (Hong Kong)
Providence Health Care (Canada)
Providence Medford Medical Center (OR)
Provincial Health Services Authority (Vancouver, BC, Canada)
Provincial Laboratory for Public Health (Edmonton, AB, Canada)
Queen Elizabeth Hospital (Canada)
Queensland Health Pathology Services (Australia)
Quest Diagnostics, Inc
Quest Diagnostics, Inc (San Juan Capistrano, CA)
Quest Diagnostics JV (IN, OH, PA)
Quest Diagnostics Laboratories (WA)
Quintiles Laboratories, Ltd. (GA)
Rady Children's Hospital San Diego (CA)
Redington-Fairview General Hospital (ME)
Régie Régionale Dela Santé Beaséjour (Canada)
Regional Health Authority - Central Manitoba Inc (Canada)
Regional Health Authority Four (RHA4) (Canada)
Regions Hospital (MN)
Research Medical Center (MO)
Riverside Methodist Hospital (OH)
Riverview Hospital (WI)
Riyadh Armed Forces Hospital, Sulaymainia (Riyadh, Saudi Arabia)
Robert Wood Johnson University Hospital (NJ)
Rush North Shore Medical Center (IL)
SAAD Specialist Hospital (Saudi Arabia)
Sahlgrenska Universitetssjukhuset (Sweden)
Saint Elizabeth Regional Medical Center (NE)
Saint Francis Hospital & Medical Center (CT)
St. Agnes Healthcare (MD)
St. Anthony Hospital (OK)
St. Anthony Hospital Central Laboratory (CO)
St. Anthony's Hospital (FL)
St. Barnabas Medical Center (NJ)
St. Christopher's Hospital for Children (PA)
St. Francis Medical Center (MN)
St. John Hospital and Medical Center (MI)
St. John's Hospital (IL)
St. John's Hospital (MO)
St. John's Hospital & Health Ctr. (CA)
St. John's Mercy Medical Center (MO)
St. Joseph Medical Center (MD)
St. Joseph Mercy Hospital (MI)
St. Joseph's Hospital (FL)
St. Joseph's Hospital & Health Center (ND)
St. Joseph's Medical Center (CA)
St. Joseph Mercy – Oakland (MI)
St. Joseph's Regional Medical Center (NJ)

St. Jude Children's Research Hospital (TN)
St. Louis University Hospital (MO)
St. Luke's Hospital (PA)
St. Luke's Hospital (FL)
St. Luke's Hospital (IA)
St. Margaret Memorial Hospital (PA)
St. Mary Medical Center (CA)
St. Mary's Health Center (MO)
St. Mary's Healthcare (SD)
St. Mary's Hospital and Medical Center (WI)
St. Mary's Medical Center (IN)
St. Michael's Hospital Diagnostic Laboratories & Pathology (Canada)
St. Thomas More Hospital (CO)
Samsung Medical Center (Korea)
San Francisco General Hospital-University of California San Francisco (CA)
Sanford USP Medical Center (SD)
SARL Laboratoire Carron (France)
Saudi Aramco Medical (Saudi Arabia)
Scott Air Force Base (IL)
Scott & White Memorial Hospital (TX)
Seoul Clinical Laboratories (Korea)
Seoul National University Hospital (Korea)
Seton Medical Center (CA)
Shamokin Area Community Hospital (PA)
Shape Healthcare Clinic (APO, AE)
Sheik Kalifa Medical City (UAE)
Shore Memorial Hospital (NJ)
Shriners Hospitals for Children (SC)
Singapore General Hospital (Singapore)
SJRMC Plymouth Laboratory (IN)
Sonora Quest JV (AZ)
South Bend Medical Foundation (IN)
South County Hospital (RI)
South Dakota State Health Laboratory (SD)
South Florida Baptist Hospital (FL)
South Miami Hospital (FL)
South Texas Laboratory (TX)
Southern Health Care Network (Australia)
Southwest Nova District Health Authority (Canada)
Specialty Laboratories, Inc. (CA)
Spectrum Health - Blodgett Campus (MI)
Stanford Hospital and Clinics (CA)
Starke Memorial Hospital Laboratory (IN)
State of Connecticut Department of Public Health (CT)
State of Washington Public Health Labs
Steele Memorial Hospital (ID)
Stillwater Medical Center (OK)
Stirling Medical Innovations (United Kingdom)
Stony Brook University Hospital (NY)
Stormont-Vail Regional Medical Center (KS)
Stratford General Hospital (Canada)
Sudbury Regional Hospital (Canada)
Sunnybrook Health Science Center (ON, Canada)
Swedish Medical Center (CO)
Sydney South West Pathology Service (Australia)
Taipei Veterans General Hospital (Taiwan)
Taiwan Society of Laboratory Medicine
Tampa General Hospital (FL)
Temple Univ. Hospital - Parkinson Pav. (PA)
Texas Department of State Health Services (TX)
The Bermuda Hospitals Board (Bermuda)
The Community Hospital (OH)
The Credit Valley Hospital (Canada)
The Hospital for Sick Children (Canada)
The Michener Inst. for Applied Health Sciences (Canada)
The Nebraska Medical Center (NE)
The New York Hospital Medical Center of Queens (NY)
The Ottawa Hospital (Canada)
The Permanente Medical Group (CA)
The Toledo Hospital (OH)
The University of Texas Medical Branch (TX)
Thomason Hospital (TX)
ThromboVision, Inc. (TX)
Timmins and District Hospital (Canada)
Touro Infirmary (LA)
Tri-Cities Laboratory (WA)
Tripler Army Medical Center (HI)
Tufts New England Medical Center Hospital (MA)
UCLA Medical Center Clinical Laboratories (CA)
UCSD Medical Center (CA)
UCSF Medical Center China Basin (CA)
UMass Memorial Medical Center (MA)
UMC of Southern Nevada (NV)
UNC Hospitals (NC)
Union Clinical Laboratory (Taiwan)
United Clinical Laboratories (IA)
Unity HealthCare (IA)
Universita Campus Bio-Medico (Italy)
Universitair Ziekenhuis Antwerpen (Belgium)
University College Hospital (Ireland)
University of Alabama-Birmingham Hospital (AL)
University of Arkansas for Medical Sci. (AR)
University of Colorado Health Sciences Center (CO)
University of Colorado Hospital
University of Illinois Medical Center (IL)
University of Iowa Hospitals and Clinics (IA)
University of Kentucky Med. Ctr. (KY)
University of Maryland Medical System
University of Medicine & Dentistry, NJ University Hosp. (NJ)
University of MN Medical Center - Fairview
University of MS Medical Center (MS)
University of Missouri Hospital (MO)
University of So. Alabama Children's and Women's Hospital (AL)
University of the Ryukyus (Japan)
University of Virginia Medical Center
University of Washington
U.S. Army Health Clinic – Vicenza (APO, AE)
U.S.A. Meddac (Pathology Division) (MO)
U.T. Health Center (TX)
UW Hospital (WI)
UZ-KUL Medical Center (Belgium)
VA (Asheville) Medical Center (NC)
VA (Bay Pines) Medical Center (FL)
VA (Chillicothe) Medical Center (OH)
VA (Cincinnati) Medical Center (OH)
VA (Colmery-O'Neil) Medical Center (KS)
VA (Dallas) Medical Center (TX)
VA (Dayton) Medical Center (OH)
VA (Decatur) Medical Center (GA)
VA (Fayetteville) Medical Center (AR)
VA (Hines) Medical Center (IL)
VA (Indianapolis) Medical Center (IN)
VA (Iowa City) Medical Center (IA)
VA (Long Beach) Medical Center (CA)
VA (Miami) Medical Center (FL)
VA New Jersey Health Care System (NJ)
VA Outpatient Clinic (OH)
VA (Phoenix) Medical Center (AZ)
VA (San Diego) Medical Center (CA)
VA (Seattle) Medical Center (WA)
VA (Tucson) Medical Center (AZ)
Valley Health (VA)
Vancouver Hospital and Health Sciences Center (BC, Canada)
Vanderbilt University Medical Center (TN)
Virga Jessezieukenhuis (Belgium)
Virginia Regional Medical Center (MN)
ViroMed Laboratories (LabCorp) (MN)
WakeMed (NC)
Walter Reed Army Medical Center (DC)
Warren Hospital (NJ)
Waterbury Hospital (CT)
Waterford Regional Hospital (Ireland)
Weirton Medical Center (WV)
Wellstar Cobb Hospital Laboratory (GA)
Wellstar Douglas Hospital Laboratory (GA)
Wellstar Health System (GA)
Wellstar Paulding Hospital (GA)
Wellstar Windy Hill Hospital Laboratory (GA)
West China Second University Hospital, Sichuan University (P.R. China)
West Valley Medical Center Laboratory (ID)
Westchester Medical Center (NY)
Wheaton Franciscan & Midwest Clinical Laboratories (WI)
Wheeling Hospital (WV)
Whitehorse General Hospital (Canada)
William Beaumont Army Medical Center (TX)
William Beaumont Hospital (MI)
William Osler Health Centre (Canada)
Winchester Hospital (MA)
Wishard Health Sciences (IN)
Womack Army Medical Center (NC)
Women's Health Laboratory (TX)
Woodlawn Hospital (IN)
York Hospital (PA)

OFFICERS

Robert L. Habig, PhD,
President
Habig Regulatory Consulting

Gerald A. Hoeltge, MD,
President-Elect
Cleveland Clinic

Mary Lou Gantzer, PhD
Secretary
Dade Behring Inc.

W. Gregory Miller, PhD,
Treasurer
Virginia Commonwealth University

Thomas L. Hearn, PhD,
Immediate Past President
Centers for Disease Control and Prevention

Glen Fine, MS, MBA,
Executive Vice President

BOARD OF DIRECTORS

Susan Blonshine, RRT, RPFT, FAARC
TechEd

Maria Carballo
Health Canada

Russel K. Enns, PhD
Cepheid

Lillian J. Gill, DPA
FDA Center for Devices and Radiological Health

Prof. Naotaka Hamasaki, MD, PhD
Nagasaki International University

Valerie Ng, PhD, MD
Alameda County Medical Center/
Highland General Hospital

Janet K.A. Nicholson, PhD
Centers for Disease Control and Prevention

Luann Ochs, MS
BD Diagnostics – TriPath

Timothy J. O'Leary, MD, PhD
Department of Veterans Affairs

Klaus E. Stinshoff, Dr.rer.nat.
Digene (Switzerland) Sàrl (Retired)

Michael Thein, PhD
Roche Diagnostics GmbH

James A. Thomas
ASTM International

940 West Valley Road ▾ Suite 1400 ▾ Wayne, PA 19087 ▾ USA ▾ PHONE 610.688.0100
FAX 610.688.0700 ▾ E-MAIL: customerservice@clsi.org ▾ WEBSITE: www.clsi.org ▾ ISBN 1-56238-653-0

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE®

(Formerly NCCLS)

Incertitudinea de măsurare

in
Incercările Cantitative

3.Exprimarea rezultatelor analitice şi evaluarea erorilor.

- Definiţie:
- Eroare (de masurare): diferenta intre rezultatul unei masurari şi o valoare adevarata a masurandului.
- Note: 1. Întrucat o valoare adevarata nu poate fi determinata, in practica este utilizata o valoare conventional adevarata.
- Nota: Rezultatul unei asemenea operatii poate fi exprimat printr-o valoare unica (estimare punctuala) sau printr-un interval de estimare. (cf. SR ISO 3534 - 1:1996).

3.1 Erori sistematice.

- **Definiţie.**
- **Eroare sistematica:** diferenta intre media aritmetica a rezulratelor unui numar infinit de masurari ale aceluiaşi masurand, efectuate in conditii de repetabilitate şi o valoare adevarata a masurandului.
- **Note:** 1. Eroarea sistematica este egala cu diferenta dintre **eroarea de masurare** şi **eroarea aleatoare**.
- 2. Ca si valoarea adevarata, eroarea sistematica si cauzele acesteia nu pot fi cunoscute complet.
- 3. Pentru un mijloc de masurare, a se vedea eroarea de justete. (cf. SR 13251:1996).

3.1 Erori sistematice.

- Erorile sietematice se mai numesc şi erori de metoda, fiind determinate de cauze permanente, cunoscute, repetandu-se in toate determinarile şi afectand exactitatea (justetea) rezultatelor analitice

Exactitate de masurare

- **Definiţie**
- **Exactitate de masurare:** grad de concordanta intre rezultatul unei masurari şi o valoare adevarata a masurandului.
- **Note:** 1. Conceptul "exactitate" este calitativ.
- 2. Termenul "precizie" nu trebuie utilizat pentru exactitate. (cf. SR 13251:1996)
- Exactitatea unei masuratori, numita şi acuratete, este o masura a apropierii sau a departarii rezultatului ei de valoarea reala sau adevarata.

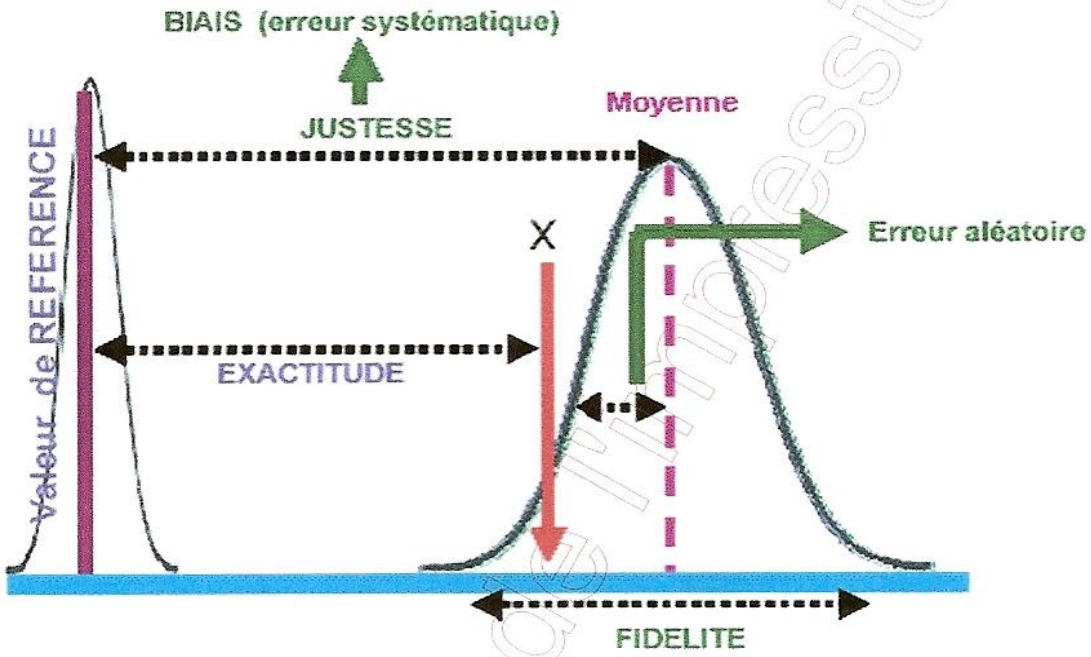
Exactitate de masurare

- In cazul în care nu se cunoaşte valoarea adevarata, pentru aprecierea exactitatii se utilizeaza media aritmetica a tuturor rezultatelor Xm , considerata ca cea mai apropiata de valoarea adevarata.

3.2 Erori aleatoare (intamplatoare)

- **Definiţii.**
- **Eroare aleatoare:** diferenta între **rezultatul unei masurari** şi **media aritmetica** a rezultatelor unui număr infinit de masurari ale aceluiaşi masurand efectuate in conditii de repetabilitate.
- **Note:** 1. Eroarea aleatoare este egala cu diferenta dintre eroarea (de masurare) si eroarea sistematica.
- 2. Intrucat poate fi efectuat numai un număr finit de masurari, este posibil sa se determine numai o estimatie a erorii aleatorii. (cf. SSR 13251:1996).

Exactitate şi erori



X = un résultat de mesure.

Măsurarea variabilităţii

- Această importanţă a variabilităţii se va produce natural atunci când "controlul" este testat la repetabilitate. Variabilitatea este afectată de operatorul tehnic, condiţiile de mediu şi caracteristicile de performanţă ale metodei de încercare.
- Scopul este ca diferenţa între variabilităţi să reducă riscul şi la scăderea erorilor.

Masurarea tendinţelor centrale

- Datele sunt frecvent distribuite în jurul valorii centrale sau a localizării centrale
- Asupra acestui punct sunt mai mulţi termeni care descriu această localizare centrală, sau "tendinţele centrale"a setului (şirului).

Măsurarea tendinţelor centrale

- Mediana = valoarea centrală (midpoint) a sirului de determinari
- Moda (dominanta) = valoarea careia îi corespunde frecventa maxima de masuratori într-un sir de determinari
- Media = valoarea mediei unui şir de determinări

Măsurarea tendinţelor centrale -ISO

- **mediana** *Me-* se defineste ca valoare a variabilei care împarte sirul rezultatelor, dispuse în ordine crescatoare, în doua parti egale.
- **moda** sau **dominanta** *M0* -se defineste ca valoarea careia îi corespunde frecventa maxima de masuratori într-un sir de determinari.

Calculul mediei (aritmetice)

$$(\overline{X}) = \frac{X_1 + X_2 + X_3 \ \ldots + X_n}{n}$$

$\overline{X}$ = Media

X_1 = Primul rezultat

X_2 = Secundul rezultat

X_n = Ultimul rezultat al seriei (şirului)

n – Numărul total de rezultate

Calculul mediei: Valori extreme

1. 192 mg/dL
2. 194 mg/dL
3. 196 mg/dL
4. 196 mg/dL
5. **160 mg/dL**
6. 196 mg/dL
7. 200 mg/dL
8. 200 mg/dL
9. 202 mg/dL
10. **255 mg/dL**
11. 204 mg/dL
12. 208 mg/dL
13. 212 mg/dL

Calculul Mediei

1) 192 mg/dL
2) 194 mg/dL
3) 196 mg/dL
4) 196 mg/dL
5) 196 mg/dL
6) 200 mg/dL
7) 200 mg/dL
8) 202 mg/dL
9) 204 mg/dL
10) 208 mg/dL
11) 212 mg/dL

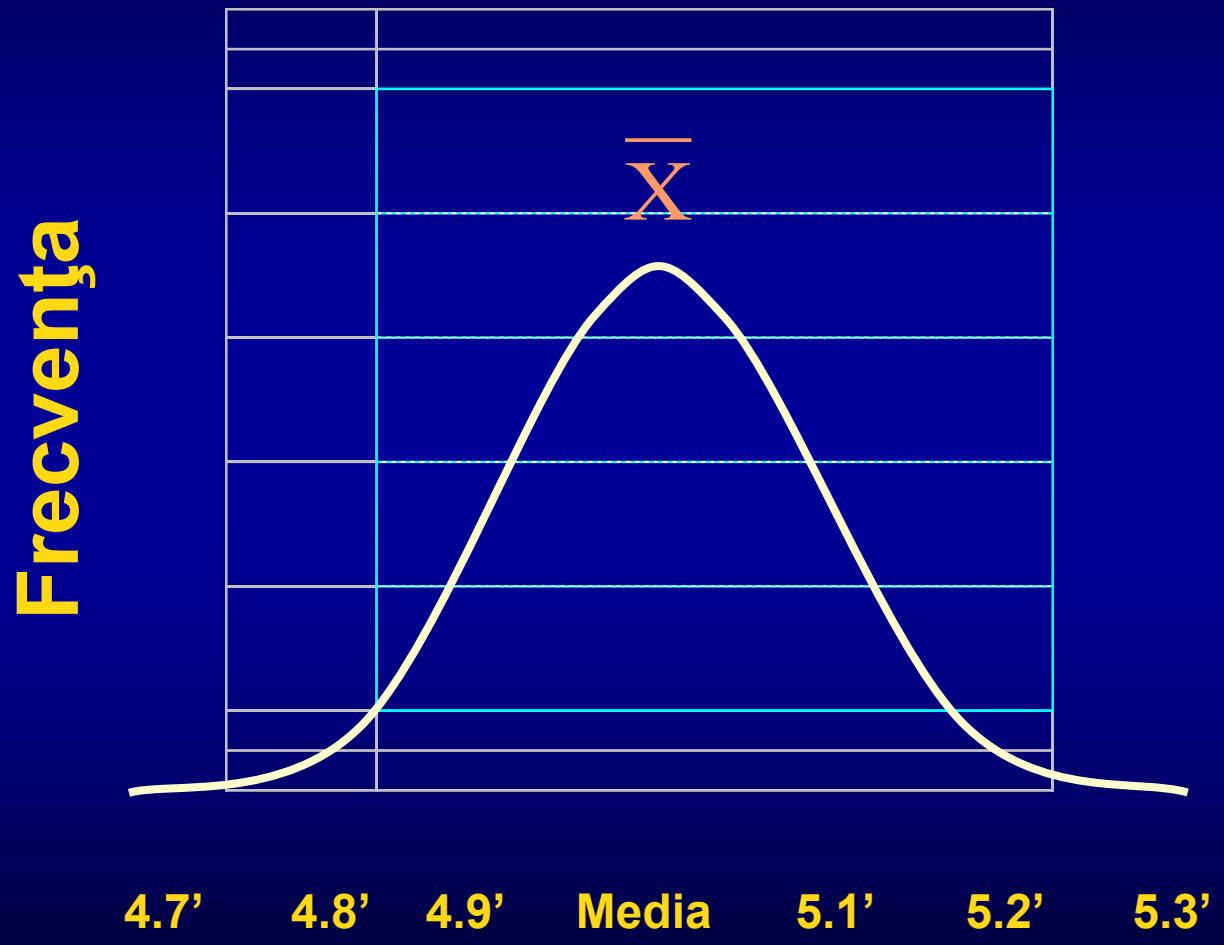
Suma = 2,200 mg/dL

- Media = calcularea mediei valorilor
- Suma valorilor ($X_1 + X_2 + X_3 \ldots X_{11}$) împărţita prin numărul (n) al observaţiilor
- Media celor 11 observaţii este (2200 ÷ 11) = 200 mg/dL

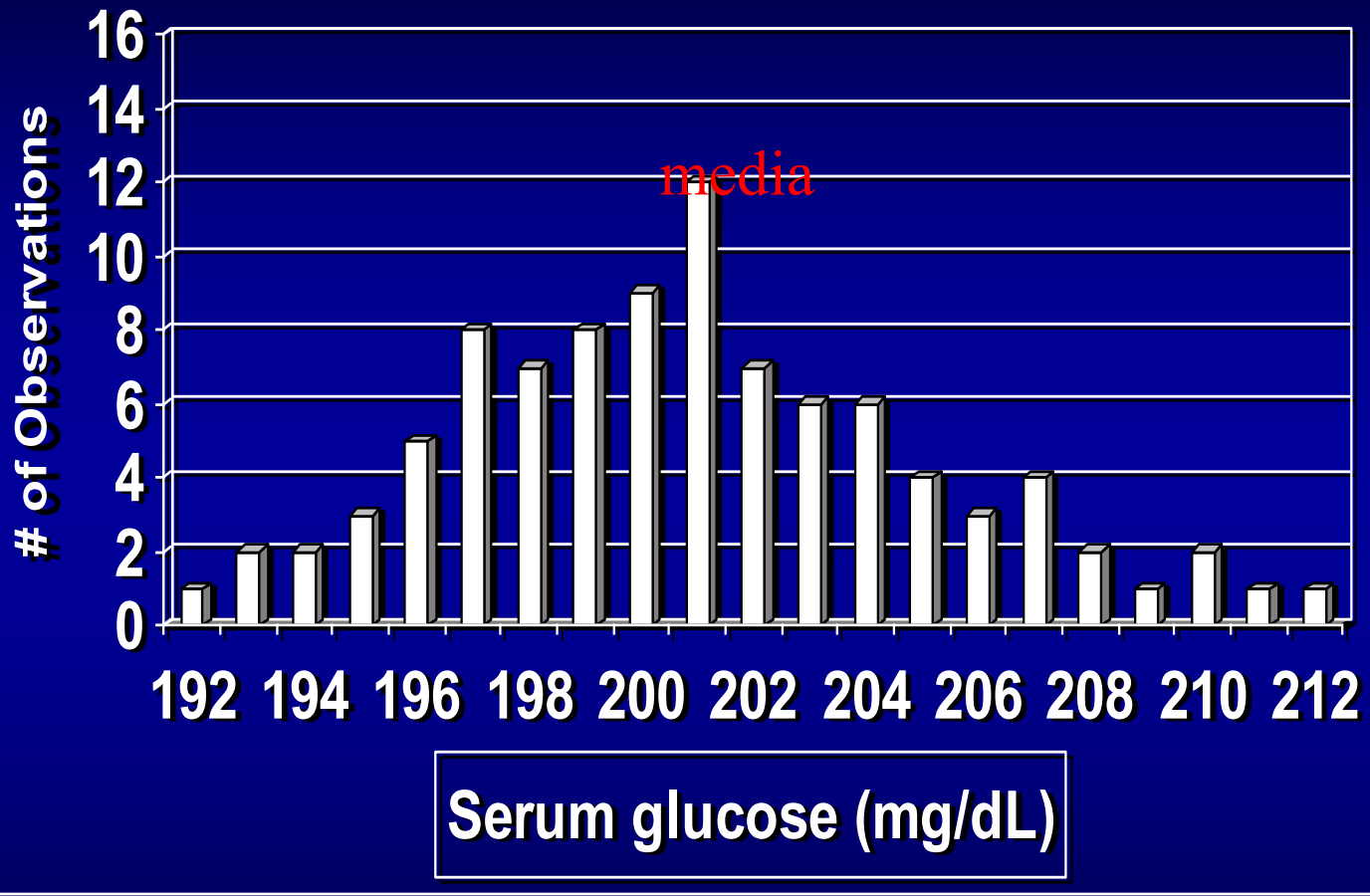
Distribuţia normală

- Toate valorile au o distribuţie simetrică în jurul mediei
- Caracteristica "bell-shaped" (palarie) curbei
- Asumarea pentru controlul statistic al calitaţii

Distribuţia normală



Distribuţia normală

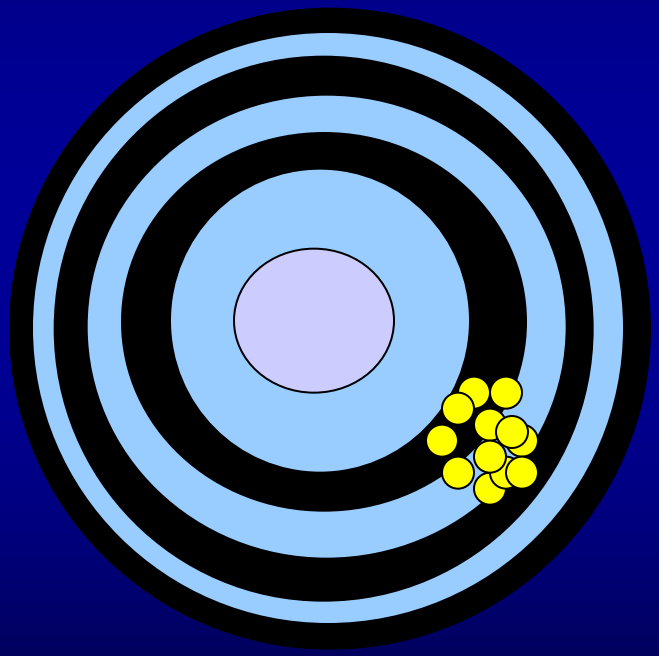


Acuratete (exactitate) si precizie

- Gradul de fluctuaţie in măsurari este indicat prin "precizia" incercarilor.
- Apropierea măsurarii de valoarea adevarata este indicata prin "acurateţea" incercarii.
- Controlul Calitatii este utilizat pentru monitorizarea preciziei si acuratetei incercarilor in supravegherea obtinerii unor rezultate sigure.

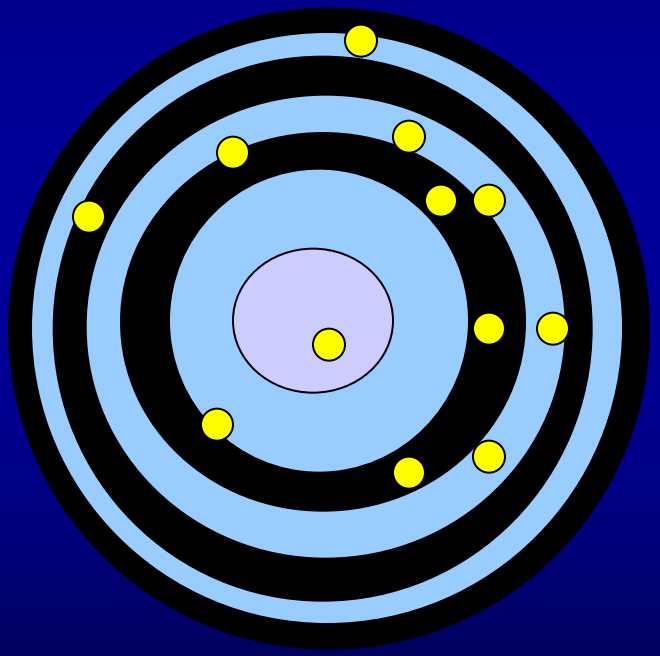
Precizie si exactitate

- Precizie si inexactitate



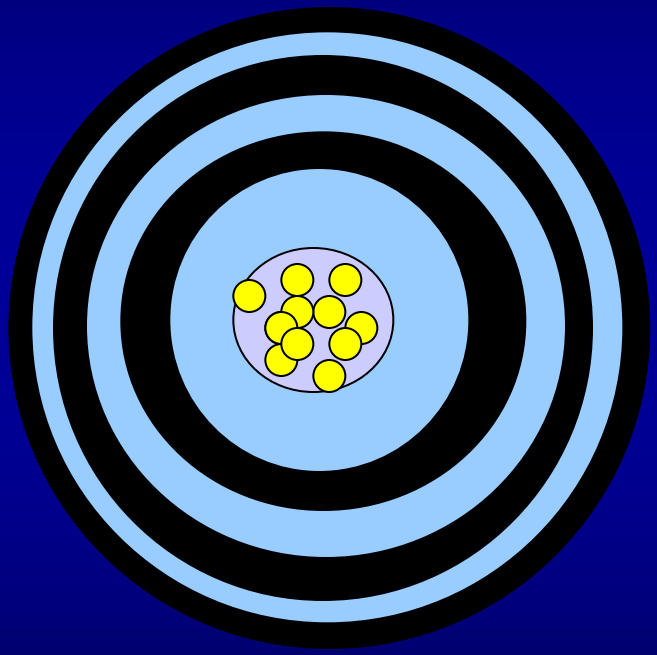
Erori sistematice

- Inprecizie si inexactitate



Erori intamplatoare

Precizie si exactitate



Măsurarea dispersiei variabilităţii

- Aici sunt diferiţi termeni care descriu dispersia variabilităţii datelor în jurul mediei :
  - Intervalul
  - Varianţa
  - Deviatia Standard
  - Coeficientul de Variaţie

Intervalul

- Intervalul se referă la diferenţa sau întinderea între cea mai mare şi cea mai mică dintre observaţii.
- El este cea mai simplă măsură a dispersiei.
- El nu face o presupunere privind forma distribuţiei sau a tendinţei centrale a datelor.

Calculul varianţei (S^2)

$$S^2 = \frac{\sum (X_1 - \bar{X})^2}{N-1} = mg^2/dl^2$$

Calculul varianţei

- Varianţa este o măsură a variabilităţii în jurul mediei.
- Ea este calculată ca medie a pătratelor abaterilor valorilor faţă de medie.
  - Suma pătratelor a abaterilor valorilor faţă de medie, împărţita prin numărul de observaţii (corectată cu gradele de libertate)

Gradele de libertate

- Reprezintă numărul datelor punctelor independente conţinute în setul de date.
- Mai întâi se calculează media, iar calculul varianţei a avut un grad de libertate (n-1)

Calculul deviaţiei standard

$$S = \sqrt{\frac{(x_1 - \bar{x})^2}{N-1}} = \text{mg/dl}$$

$$\sqrt{\text{variance}}$$

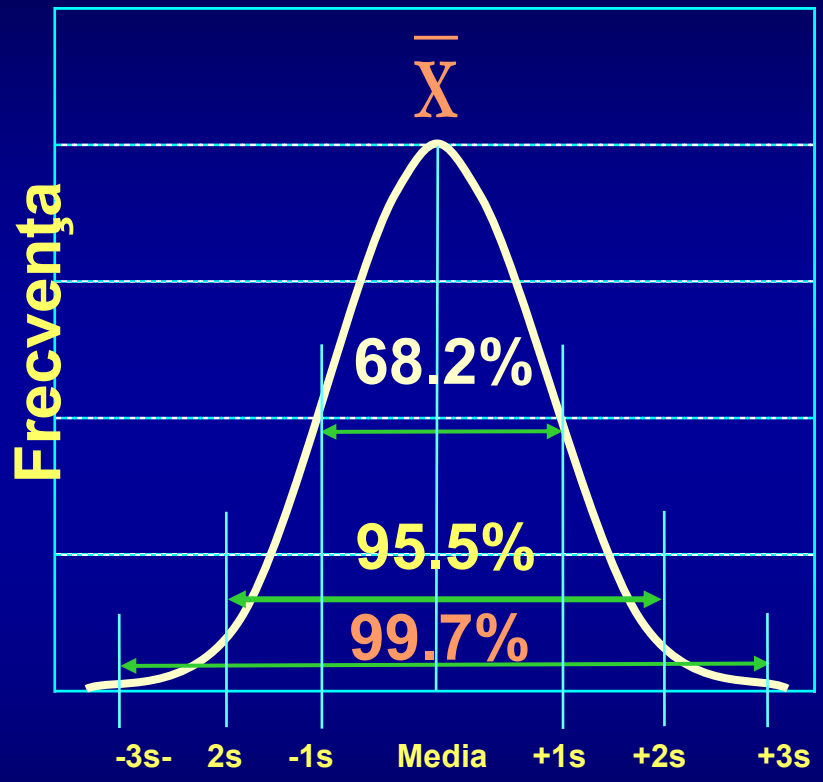
Calculul deviaţiei standard

- Deviaţia standard (S) este rădăcina pătrată pozitivă a varianţei.
  - Ea este rădăcina pătrată a mediei pătratice a deviaţiei faţă de medie.
- S este în general utilizată (mai curând decât varianţa) deoarece ea are aceleaşi unităţi ca media si observaţiile originale.
- S este principalul calcul (mijloc) utilizat în laboratoare pentru măsurarea dispersiei unui grup (şir) în jurul mediei.

Deviaţia Standard şi probabilitatea

- Pentru un şir de date cu o distribuţie normală, o valoare va cădea în interiorul intervalului de la :

  +/- 1 S pentru 68.2% din măsurări
  - +/- 2 S pentru 95.5% din măsurări
  - +/- 3 S pentru 99.7% din măsurări



Deviaţia Standard şi probabilitatea

- Aşa cum se poate vedea din Fig. frecventa este maxima pentru media aritmetica $\bar{X}$, fata de care frecventa descreste simetric de o parte şi de alta a acesteia, ca urmare a faptului ca abaterile de la medie se produc cu aceeaşi probabilitate in ambele sensuri.
- Curba de distribute normala a lui Gauss are doua puncte de inflexiune. Distanta dintre valoarea mediei aritmetice $\bar{X}$ si primul punct de inflexiune se numeşte abatere tip sau abatere standard si se noteaza cu S.

Deviaţia Standard şi probabilitatea

- Marimea abaterii standard caracterizeaza reproductibilitatea (şi repetabilitatea) deci fidelitatea sau precizia metodei de analiza, respectiv a masurărilor; se poate spune ca abaterea standard caracterizeaza in fond dispersia (sau impraştierea) rezultatelor masuratorilor analitice fata de media aritmetica
- Evident, cu cat valoarea abaterii standard este mai mica, cu atat metoda de analiza este mai reproductibila, iar rezultatele analitice pe care acestea le furnizeaza sunt mai precise.

Deviaţia Standard şi probabilitatea

- Din curba de distribute normala se vede ca exista trei intervale de incredere şi anume :
- ± S ; ± 2 S şi ± 3 S
- Dar cel mai probabil este intervalul ± S deoarece abaterile mici sunt mai frecvente, şansele ca rezultatul analitic sa se inscrie in acest interval fiind de 68,26 %;
- - şansele ca un rezultat analitic sa se situeze in intervalul de incredere de ± 2 S sunt de 95,46 %,
- - iar ca el sa se situeze in intervalul de ± 3 S sunt de 99,74%.
- Rezulta prin urmare ca intradevar abaterile (erorile) mici sunt mai probabile şi deci mai frecvente.

Probabilitatea

- Probabilitatea matematica se exprima prin raportul dintre cazurile (şansele) favorabile pentru care evenimentele se pot produce şi numarul total de cazuri (şanse) posibile. Spre exemplu daca se executa 25 determinari analitice dintre care 5 dau acelaşi rezultat, probabilitatea de obtinere a unui astfel de rezultat este de 20% :
- $\alpha = 5 : 25 = 0,2$ iar $\alpha \% = 0,2 \cdot 100 = 20 \%$

Probabilitatea

- Daca α = 0 obtinerea unui astfel de rezultat este imposibila, iar daca α = 100 şansa de a obtine un astfel de rezultat este absoluta, de 100 %.

Intervale de încredere

- Luand in considerare intervalul de incredere de ± S pentru îcadrarea valorii adevarate (reală) A se poate scrie expresia :

$$X - S < A < X + S$$

- Daca se inlocuieşte S cu

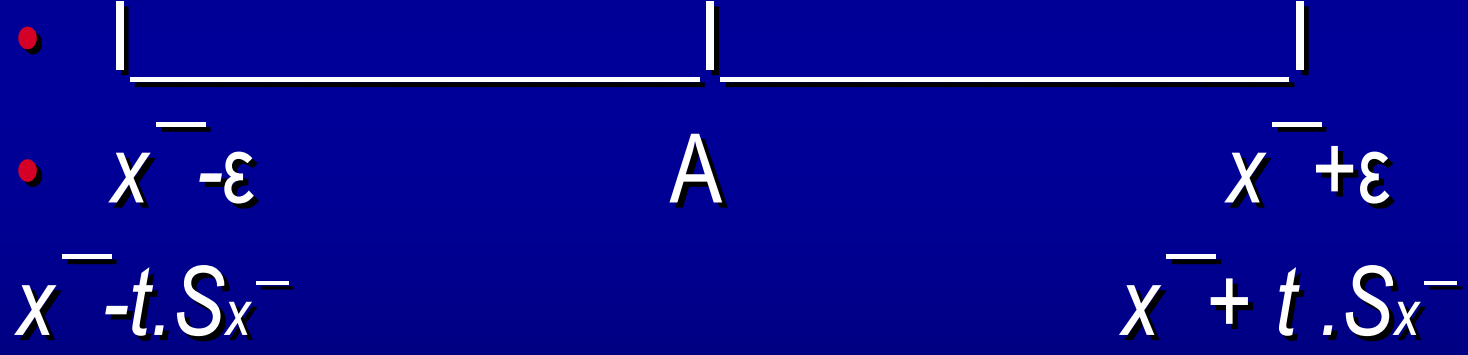
$$\varepsilon = t.\ S_{\bar{x}}$$

- se poate scrie o noua expresie a intervalului de incredere:
- $\bar{x} - \varepsilon < A < \bar{x} + \varepsilon$ sau
- $A = \bar{x} \pm \varepsilon = \bar{x} \pm t\ .S_{\bar{x}}$

Intervale de încredere

- Prin urmare, in acest caz intervalul de incredere (sau de siguranta) este egal cu
- $\pm \varepsilon = 2t\, S_{\bar{x}}$
- iar marimea ε (S) caracterizeaza aşa cum s-a mai spus precizia unui rezultat analitic ; acest nou interval de incredere se poate reprezenta grafic astfel:
- $\bar{x} \pm \varepsilon = \bar{x} \pm t\, S_{\bar{x}}$

Intervale de încredere



Intervale de încredere

- Din examinarea datelor prezentate mai sus rezulta cateva concluzii şi anume:
- pentru 30 % dintre rezultatele analitice, eroarea este mai mare decat S deci $\varepsilon > S$, iar valoarea adevarata se gaseşte in restul de
- 70 % dintre rezultate, care se incadreaza in intervalul de incredere de $\bar{x} \pm S$

Intervale de încredere

- pentru 5 % dintre rezultatele analitice ce se obtin, erorile intamplatoare absolute sunt mai mari de 2 S deci ε > 2 S iar valoarea adevarata se gaseşte in restul de 95 % dintre rezultate, încadrandu-se in intervalul de mcredere de $\bar{x}$ ±2 S

Intervale de încredere

- pentru 0,3 % dintre rezultate, erorile intamplatoare absolute sunt mai mari de 3 S deci $\varepsilon > 3S$ iar valoarea adevarata se gaseşte in restul de 99,74 % dintre rezultate, care se incadreaza in intervalul de incredere de $\bar{x} \pm 3S$

Intervale de încredere

- Conform teoriei erorilor, in cazul efectuarii unui numar mare de determinari se poate spune cu o certitidine (probabilitate) de α % = 0,9974 sau de α % = 99,74% (deci aproape 100%) ca erorile intamplatoare absolute nu sunt mai mari de ± 3 S erorile care depaşesc acest interval de incredere (fiind mai mari sau mai mici) sunt provocate de greşeli personale (umane) mari care dovedesc o manualitate foarte slaba şi multa neglijenta.

Exprimarea rezultatului final

- Rezultatul final al unei analize, in cazul in care se executa un numar mic de determinari, n < 30, se exprima astfel:
- $A = \bar{X} \pm t\, S_{\bar{x}}$
- - *A* fiind rezultatul final,
- - $\bar{X}$ media aritmetica a tuturor rezultatelor,
- $S_{\bar{x}}$ este eroarea medie patratica a mediei de selectie (respectiv a mediilor),iar
- t este criteriul Student, care caracterizeaza siguranta metodei deanaliza

Criteriul Student

- intervalul $\pm t \,.S_{\bar{x}} = 2t.S_{\bar{x}}$ este intervalul de incredere in care se gaseşte cu certitudine valoarea adevarata A
- . Criteriul Student are valori bine determinate ce depind de numarul de grade de libertate k sau N, grade ce depind la randul lor de numarul determinarilor şi de probabilitatea aleasa α sau P %.
- $K=N=n-1$
- Pentru diferite grade de libertate şi pentru probabilitati de 95 % şi 99 %, valorile criteriului (testului) Student sunt prezentate in tabelul

Criteriul Student

- K1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 20
- P=95%
- 1 2
- 12,7 4,30 3,18 2,78 2,57 2,45 2,37 2,31 2,2
- 6 2,23 2,09
- P =99%
- 63,6 9,93 5,84 4,60 4,0 3,71 3,50 3,36 3,25 3,17 2,85

Criteriul Student

- **Test t; test Student:** testul statistic in care, daca ipoteza nula este considerata adevarata, atunci se presupune ca statistica testului are o repartitie t (Student).
- **Nota:** Acesta este aplicat, de exemplu, in urmatoarele probleme:
- testul de egalitate intre dispersia unei populatii normale si o valoare specificata, statistica testului avand la baza media şi dispersia celor doua eşantioane independente;
- testul de egalitate intre mediile a doua populatii normale care au aceeaşi dispersie, statistica testului bazandu-se pe mediile şi pe dispersiile celor doua eşantioane independente;teste asupra valorii coeficientului liniar de regresie sau corelatie. (cf. SR ISO 3534-1:1996).

4.9 Eliminarea rezultatelor nesigure (indoielnice)

- Încrederea ce o putem avea in media aritmetica este cu atat mai mare cu cat numarul rezulatelor masuratorilor este mai mare; aceasta inseamna ca media aritmetica poate fi considerata ca cel mai bun rezultat al analizei (şi cel mai exact).
- Pe de alta parte, timpul şi costul nu permite executarea unui numar foarte mare de determinari; la acestea se adauga faptul ca unele rezultate pot sa para (şi sa chiar fie) mult diferite de media aritmetica; aceste rezultate se numesc nesigure sau indoielnice; inglobarea lor in media aritmetica poate prejudicia valoarea rezultatului final, iar eliminarea lor necontrolata constituie o pierdere pentru analiza.

4.9 Eliminarea rezultatelor nesigure (indoielnice)

- Iata de ce in astfel de conditii trebuie sa se verifice prin teste matematice care dintre rezultatele analitice sunt bune şi demne de incredere şi care nu.
- Testele ce se folosesc pentru verificarea rezultatelor nesigure se numesc teste de exactitate şi printre acestea se numara şi distributia sau testul Student, t (dar mai exista şi deviatia medie, deviatia standard şi altele). Testul Student se bazeaza pe relatia:

4.9 Eliminarea rezultatelor nesigure (indoielnice)

$$t = \frac{(\bar{X}_{n-1} - X_i)}{s\sqrt{\frac{n}{n-1}}}$$

- In care
- Xi-rezultatul care se verifică
- $\bar{X}$ **n-i** reprezinta media aritmetica a determinarilor in care nu intra rezultatul analitic suspectat a fi indoielnic;
- s -este eroarea medie patratica ce se calculeaza pentru restul de n-1 determinari, ea calculandu-se astfel:

4.9 Eliminarea rezultatelor nesigure (indoielnice)

- In functie de valoarea testului Student, t, se adopta masura de eliminare sau de pastrare a rezultatului verificat; astfel, daca t > tp (tp fiind valoarea criteriului t pentru probabilitatea aleasa) rezultatul verificat este intradevar aberant şi se elimina, iar daca t < tp el este bun §i se poate ingloba in media aritmetica.

Incertitudinea de masurare

- In prezent este larg recunoscut faptul ca, dupa ce toate erorile componente cunoscute sau asumate au fost evaluate si corectiile corespunzatoare au fost aplicate, ramane totusi o incertitudine asupra corectitudinii rezultatului declarat, adica o indoiala privitoare la cat de bine reprezinta acest rezultat valoarea marimii masurate.
- Cand se raporteaza rezultatul masurarii unei marimi fizice, este obligatoriu sa se dea o oarecare indicaţie cantitativa asupra calitaţii rezultatului, astfel ca cei care il utilizeaza sa poata aprecia increderea in acesta. Fara o asemenea indicatie, rezultatele masurarilor nu pot fi comparate, nici intre ele şi nici cu valorile de referinţa date intr-o specificaţie sau intr-un standard. De aceea, este necesar sa existe o procedura bine elaborata, usor de inţeles si general acceptata pentru caracterizarea calitaţii rezultatului unei masurari, adica pentru a evalua si a exprima incertitudinea sa

Incertitudinea de masurare

- Conceptul de incertitudine ca un atribut certificabil este relativ nou in istoria masurarilor, in schimb eroarea şi analiza erorilor fac parte de mult timp din practica stiinţei masurarilor sau a metrologiei. Trebuie acordata o mare atenţie deosebirii dintre termenii "eroare" si "incertitudine". Ei nu sunt nicidecum sinonimi, ci denota concepte cu desavarsire diferite; ei nu trebuie confundaţi intre ei sau utiliza{i greşit.

- Cuvantul "incertitudine" inseamna "indoiala" si astfel intr-un sens larg "incertitudinea de masurare" inseamna dubiu cu privire la validitatea rezultatului unei masurari. Termenul "incertitudine" este folosit atat pentru acest *concept general,* cat si pentru a desemna acele marimi specifice care dau *masurile cantitative* ale conceptului, cum ar fi de exemplu abaterea standard.

Incertitudinea de masurare

- Definiţia formala a termenului "incertitudine de masurare", asa cum este data in Ghidul ISO [5], precum şi in actualul "Vocabular international de termeni fundamentali si general! in metrologie" (VIM) [10] este urmatoarea:
- ***Incertitudine (de masurare): parametru asocial cu rezultatul măsurării, care caracterizeaza dispersia valorilor ce pot fi atribuite m mod rezonabil masurandului.***
- *Parametrul la care se face referire poate f i, de exemplu, o abatere standard (sau un multiplu anumit al acesteia), sau semilargimea unui interval avand un nivel de incredere dat.*

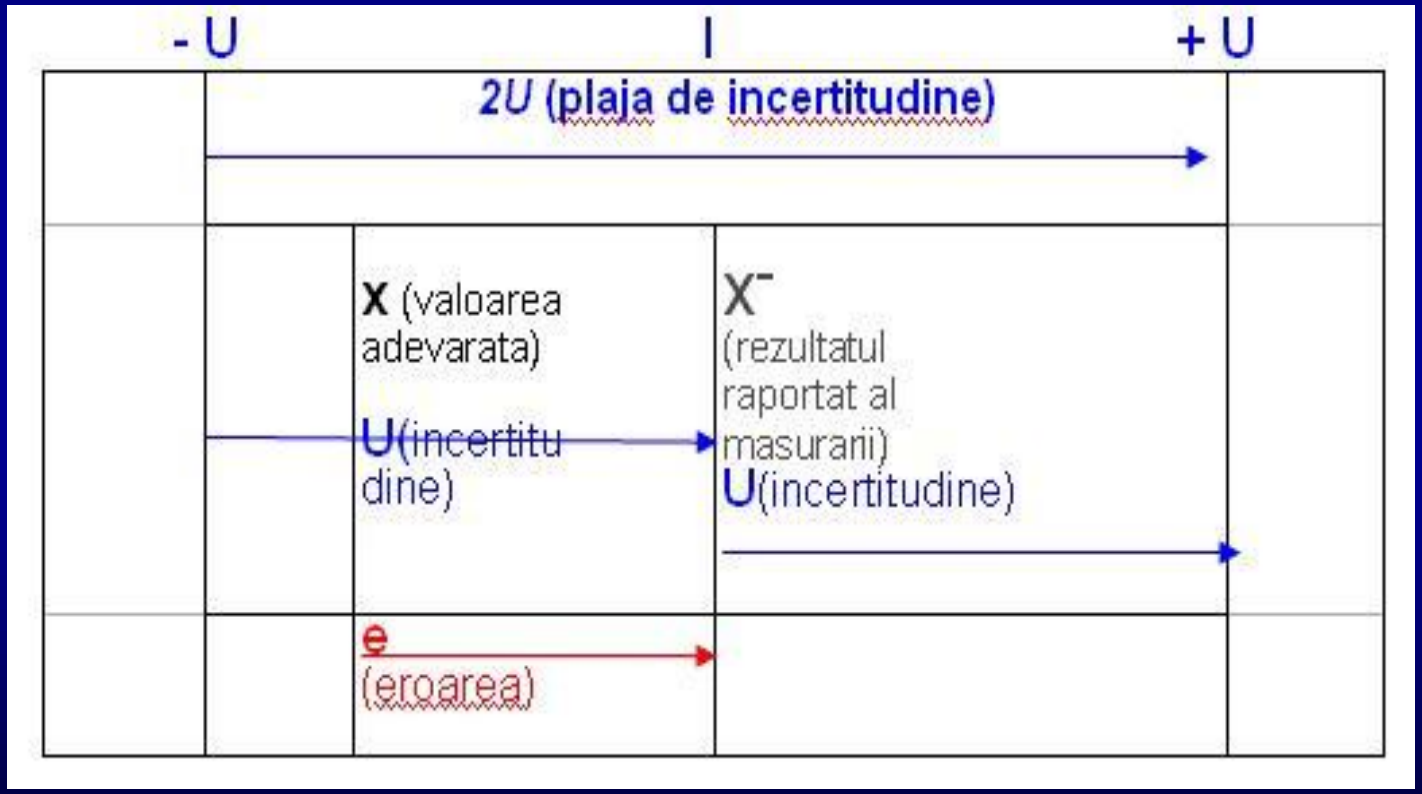
Incertitudinea de masurare

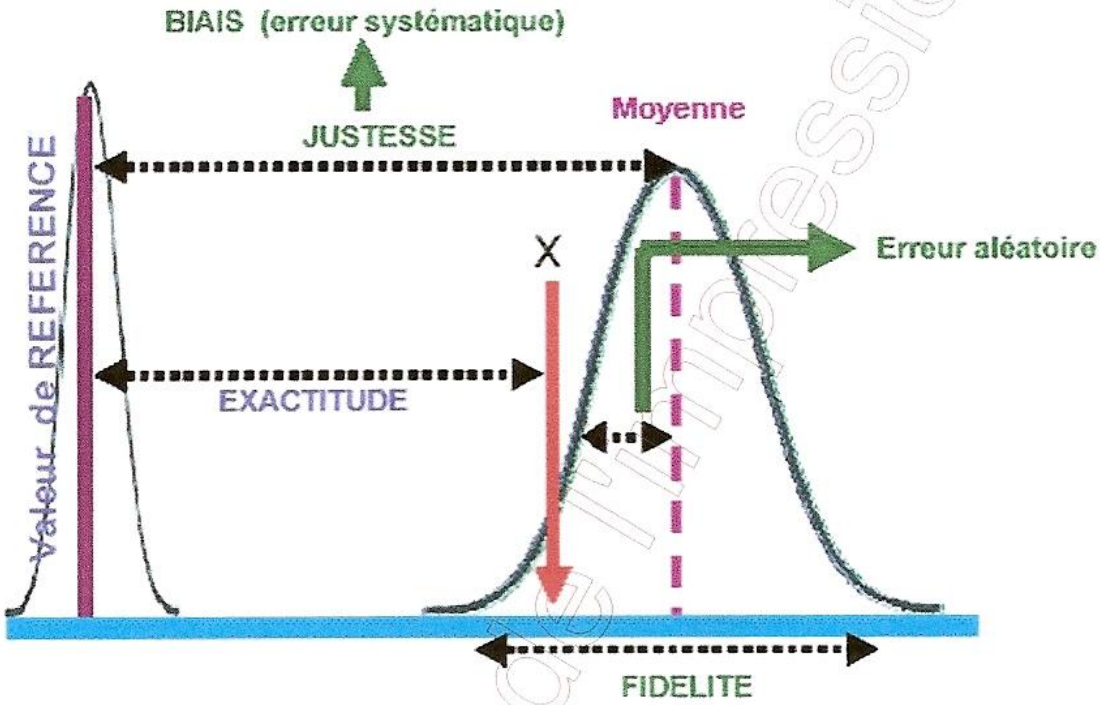
- Asa cum se arata in Ghidul ISO, aceasta definite a incertitudinii de masurare este o definite operaţionala, care se refera la rezultatul masurarii si la incertitudinea sa evaluata; in ea s-a evitat utilizarea conceptului de *valoare adevărată*. Ea este insa compatibila cu alte concepte ale incertitudinii de masurare, ca de exemplu:
- o estimate caracterizand intervalul de valori in interiorul caruia se gaseşte valoarea adevarata a masurandului (VIM, editia a 1-a, 1984);
- o masura a erorii posibile in valoarea estimata a masurandului, data de rezultatul masurarii

Incertitudinea de masurare

- In mod obişnuit, incertitudinea de masurare este definita printr-un interval central pe estimaţia ***x*** a valorii masurandului, care reprezinta in acelasi timp rezultatul raportat al masurarii.
- Incertitudinea U este astfel definita ca rezultatul masurarii sa fie prezentat prin expresia simpla, simetrica, $x_{med} \pm U$. In figura 1 sunt ilustrate aceste marimi.

Incertitudinea de masurare





X = un résultat de mesure.

Incertitudinea de masurare

- Incertitudinea de masurare cuprinde, in general, multe componente:
- -Unele din aceste componente pot fi evaluate din ***repartiţia statistica*** a rezultatelor unei serii de masurari si pot fi caracterizate prin **abateri standard experimentale** (evaluare de tip A).
- -Alte componente, care pot fi de asemenea caracterizate prin **abateri standard**, **sunt evaluate pornind de la repartiţii de probabilitate admise**, pe baza experienţei sau altor informatii (evaluare de tip B).

Moduri de evaluare a incertitudinii de masurare

- Recomandarea INC-1 (1980) a Grupului de Lucru pentru Exprimarea Incertitudinilor clasifica componentele incertitudinii in doua categorii, pe baza metodei de evaluare a lor:
- -incertitudini de tip A si incertitudini de tip B .
- Aceste categorii se refera la *incertitudine* si nu sunt sinonime cu "aleator" respectiv "sistematic". Incertitudinea corectiei unui efect sistematic identificat poate fi obtinuta uneori pe baza evaluarii de tip A, iar alteori pe baza uneia de tip B, tot asa ca si incertitudinea ce caracterizeaza un efect aleator.

Moduri de evaluare a incertitudinii de masurare

- Scopul clasificarii in tip A si tip B este sa indice cele doua modalităţi de evaluare a componentelor incertitudinii si se face numai pentru a usura tratarea problemei; clasificarea nu cauta sa indice vreo diferenţă in natura componentelor rezultate din cele doua tipuri de evaluare. Ambele tipuri de evaluare se bazeaza pe ***repartlţii de probabilitate*** si componentele de incertitudine provenite din amandoua sunt exprimate cantitativ prin *varianţe* sau *abateri standard*.

Incertitudinea de masurare

- Varia ta de
incer alculata
dintr- decat
varia
stan itiva a
lui u2 ta
pentr .
- Penti o
evalu
folos
estimata u este adesea denumita **incertitudine standard de tip B.**

Incertitudinea de masurare

- Deci, o incertitudine standard de tip A se obtine folosind o **functie densitate de probabilitate** (sau densitate de probabilitate) dedusa dintr-o **distribute de frecventa,** in timp ce o incertitudine standard de tip B se obtine dintr-o densitate de probabilitate presupusa pe baza increderii acordate aparitiei unui eveniment (denumita frecvent şi probabilitate subiectiva). Ambele abordari utilizeaza mterpretarile clasice ale probabilitatii.
- **Nota:** O evaluare de tip B a unei componente a incertitudinii este bazata, de obicei, pe un ansamblu de informatii relativ sigure.

Incertitudinea de masurare

- Incertitudinea standard a rezultatului unei masurari, atunci cand acesta este obtinut din valorile unui numar de diferite marimi este denumita **incertitudine standard compusa** şi este notata cu Uc. Aceasta este abaterea standard estimata asociata cu rezultatul masurarii şi este egala cu radacina patrata pozitiva a variantei compuse obtinute din toate componentele variantei si covariantei, evaluate indiferent prin ce mod, folosind legea de propagare a incertitudinii.

Incertitudinea extinsă

- Pentru a satisface necesitatile unor aplicatii industrial şi comerciale precum şi unele cerinte din domeniul sanatatii şi protectiei, **o incertitudine extinsa Uext** se obtine prin inmultirea incertitudinii standard compuse **uc** cu un **factor de extindere k**.
- Scopul introducerii lui **Uext** este de a determina in jurul rezultatului unei masurari un interval care este de asteptat sa cuprinda o mare parte a distributiei valorilor ce, in mod rezonabil, pot fi atribuite masurandului.
- Alegerea factorului **k**, a carui valoare este uzual cuprinsa in domeniul de la 2 pana la 3, se bazeaza pe probabilitatea de acoperire sau nivelul de incredere necesar pentru interval.
- Nota: Factorul de extindere **k** trebuie specificat intotdeauna, astfel încât incertitudinea standard a marimii masurate sa poata fi dedusa şi folosita in calculul incertitudinii standard compuse a altor rezultate ale masurarii care ar putea depinde de acea marime.

Evaluare de tip A a incertitudinii standard a estimatiilor de intrare

- Evaluarea de tip A a incertitudinii standard este o metoda de evaluare a incertitudinii bazata pe analiza statistica a unor serii de observatii.
- Se poate demonstra ca atunci cand masurarea este influentata de un numar mare de factori, care actioneaza independent, distributia de probabilitate a unei variabile aleatorii X este o distributie normala (distributie Laplace-Gauss), ilustrata grafic în figura 3, a carei functie densitate de probabilitate este :

- Parametrii distributiei normale sunt:
- **-media teoretica *μx*** a distributiei de probabilitate a marimii **X** care variaza aleatoriu
  μx =$\int$***f(x)dx***
- **-varianţa *σ²(x)*** a distributiei de probabilitate a marimii **X** care variaza aleatoriu
- ***σ²(x)***= $\int$(***x-μx)²f(x)dx***
- **- abaterea standard *σ(x) a*** distributiei de probabilitate
- ***σ(x)*** =$\sqrt{}$ ***σ²(x)***
- **-varianta mediei *σ²(x¯)***
- **σ²(x¯) = σ²(x)/ n**
- **- abaterea standard a mediei σ(x¯)**
- **σ(x¯)=$\sqrt{}$ σ²(x¯)**

Estimatiile parametrilor distributiei normale

- **Estimatiile parametrilor distributiei normale sunt:**
- **media aritmetica (experimentala) $\bar{X}$** *a n* observatii repetate independente **Xk** ale unei marimi *X* care variaza aleatoriu; *estimatie a mediei teoretice* **μx** a *distributiei de probabilitate a lui X*
- $$\bar{X} = (1/n)\Sigma\, Xk$$
- **varianta experimentală $s^2(Xk)$**, determinata pe baza a **n** observatii repetate independente ***Xk*** ale unei marimi **X** care variaza aleatoriu; *estimatie a varianţei* $\sigma^2(x)$*) a distributiei de probabilitate a lui* **X**
- $$s^2(Xk) = (1/\, n-1)\Sigma\, (Xk - \bar{X})^2$$

Estimatiile parametrilor distributiei normale

- **abaterea standard experimentală *s(Xk)*,** egala cu radacina patrata pozitiva a lui **s2(Xk***);*
  s(Xk) *este un estimator fara deplasare al abaterii standard* ***σ(x)****) a distributţiei de probabilitate a lui* **X**
- • **varianţa experimentală a mediei aritmetice *s2(X¯);*** *estimţie a variantei* ***σ²(x)***
  mediei; ***varianţă estimată obtinuta printr-o evaluate de tip A***
- **s2(X¯) = s2(Xk)/n (11)**
- • **abaterea standard experimentală a mediei aritmetice *s(X¯),*** egala cu radacina patrata pozitiva a lui *s2(X¯) este un estimator fara deplasare al lui* **σ(x)**

incertitudine standard obtinuta printr-o evaluare de tip A

- **Abaterea standard experimentala *s(Xk),*** *estimator fara deplasare al* ***abaterii standard σ(x)*** *a distributiei de probabilitate a lui X,* caracterizeaza *procesul de masurare "in sine,* adica variabilitatea valorilor *Xk* observate sau **dispersia** acestora în jurul mediei ***X¯ .***
- **Abaterea standard experimentala a mediei *s(X)*** caracterizeaza *rezultatul prelucrat al masurarii* si exprima cantitativ cat de bine estimeaza media **aritmetica *X¯*** , **media teoretica *μx*** a lui ***X*** *şi* poate fi folosita drept **masura a incertitudinii mediei *X¯ .***
- Astfel, pentru o marime de intrare **Xi** determinata pe baza a *n* observatii repetate independente ***Xi,k, incertitudinea standard u(xi)*** a estimatiei lui ***Xi, xi= Xi¯*** , este :

$$u(xi) = s(\bar{Xi}).$$

incertitudine standard obtinuta printr-o evaluare de tip A

- Pentru o masurare bine caracterizata si ***aflată sub control statistic***, atunci cand valoarea masurandului este determinata din *n* observatii independente (de exemplu obtinute pe parcursul mai multor luni) este posibil sa existe o *estimatie globala* s^2g *a* ***variantei (sau o abatere standard experimentala globala Sg)*** si în acest caz, varianta experimentala a mediei aritmetice $\bar{X}$ *a* observatiilor este estimata mai bine prin s^2g/n decat prin ***s2(X)/n*** si ***incertitudinea standard a mediei aritmetice este***

$$u = sg / \sqrt{n}.$$

- în anumite situatii, o estimatie ***xi*** a unei marimi de intrare ***Xi*** se obtine dintr-o curbă care a fost ajustata pe baza datelor experimentale prin **metoda celor mai mici patrate**. ***Varianţa estimată şi incertitudinea standard rezultantă*** ale parametrilor de ajustare caracteristici curbei pentru orice punct prevazut se pot calcula prin proceduri statistice cunoscute .
- Atunci cand sunt furnizate **evaluari de tip A ale componentelor incertitudinii** trebuie specificat întotdeauna ***numarul de grade de libertate vi*** ale lui *u(Xi)* (a se vedea G.3 din referinta 3.1.4), **egal cu *n-1.***
- În cazul simplu, în care ***xi=Xi*** $\bar{}$ şi ***u(xi)=s(Xi*** $\bar{}$***)*** se calculeaza pe baza a *n* observatii independente

Evaluare de tip B a incertitudinii standard a estimatiilor de intrare

- *Evaluarea de tip B a incertitudinii standard* asociata unei estimatii ***xi*** a unei marimi de intrare ***Xi*** , este o metoda de evaluare a incertitudinii prin alte metode decat analiza statistică a sirurilor de observatii. Incertitudinea standard ***u(xi)*** este evaluata printr-o **analiza stiintifica** bazata pe toate informatiile de care se dispune despre posibila variabilitate a lui ***Xi***.
- Ansamblul de informatii poate include :
- - date din masurari anterioare ;
- - experienta sau cunostinte generale privitoare la comportarea şi proprietatile materialelor şi aparatelor;
- - specificatii ale producatorului;
- - date furnizate în certificate de etalonare sau alte certificate ;
- - incertitudini atribuite datelor de referinta luate din manuale.

Evaluare de tip B a incertitudinii standard a estimatiilor de intrare

- Utilizarea corespunzatoare a ansamblului de informatii disponibile pentru o evaluare de tip B a incertitudinii standard necesita o viziune bazata pe experientă şi cunostinte generate şi este o deprindere care se obtine prin activitate practica. Trebuie observat ca o evaluare de tip B a incertitudinii standard poate fi la fel de demna de mcredere ca şi o evaluare de tip A, mai ales în situatia unei masurari în care evaluarea de tip A se bazeaza pe un numar relativ mic de observatii independente statistic
- Urmatoarele cazuri pot fi luate în discutie :

Evaluare de tip B a incertitudinii standard a estimatiilor de intrare

- a) Daca pentru o marime de intrare ***Xi*** este cunoscuta **o singură valoare** (o singuravaloare masurata, o valoare preluata dintr-o specificatie, dintr-un certificat de etalonare, dintr-o publicatie tehnica sau dintr-o alta sursa), aceasta valoare va fi folosita pentru estimatia ***xi***, şi daca incertitudinea specificata este exprimata ca un multiplu al unei abaterii standard, atunci *incertitudinea standard* ***u(xi)*** este egala cu **catul** dintre **valoarea mentionată** si **factorul de multiplicare**.
- ***u(xi))=incertitudine extinsă certificat etalonare / factorul de multiplicare***

Evaluare de tip B a incertitudinii standard a estimatiilor de intrare

- b)Daca pe baza unor informatii disponibile, teoretice sau experimentale, se poate presupune distributia de probabilitate pentru marimea de intrare ***Xi*** , ai carei parametrii sunt cunoscuti, respectiv, **media teoretica *μ*** si **abaterea standard σ**, atunci cea mai buna estimatie ***xi*** a lui ***Xi*** poate fi considerata **media teoretica *μ*** si ***incertitudinea standard u(xi)*** este egala cu **abaterea standard σ**;
- $u(xi) = \sigma$

Evaluare de tip B a incertitudinii standard a estimatiilor de intrare

- c)Daca este posibil sa se estimeze numai limitele **inferioară** şi **superioară** pentru marimea de intrare ***Xi*** si se poate afirma că, pentru toate aplicatiile practice, **probabilitatea** ca valorile lui ***Xi*** sa se afle în intervalul de la **a_** pana la ***a+*** este **egala cu 1**, iar probabilitatea ca valorile lui ***Xi***, sa se afle în afara acestui interval este egala cu **zero** şi daca nu exista nici o informatie specificata despre valorile posibile ale lui ***Xi*** din interiorul intervalului, atunci se poate presupune numai ca valorile lui ***Xi*** **se află cu egala probabilitate** în orice punct al intervalului***(distributie uniforma*** **sau** ***dreptunghiulara*** **a valorilor posibile).**

Distributie dreptunghiulara

- Functia densitate de probabilitate pentru o **distributie dreptunghiulara (fig.4)**, este :
- $$f(x) = \frac{1}{2}.a$$
- *Media teoretica xi, a lui X i este mijiocul intervalului, adica :*
  - xi =1/2 (a_ - a+)
- iar varianţa asociată este:
  - $u^2(xi) =. 1/12 (a_ - a+)^2$
  - **$u(xi) =. (a_ - a+) / \sqrt{12}$**

Distributie dreptunghiulara

- Figura 4

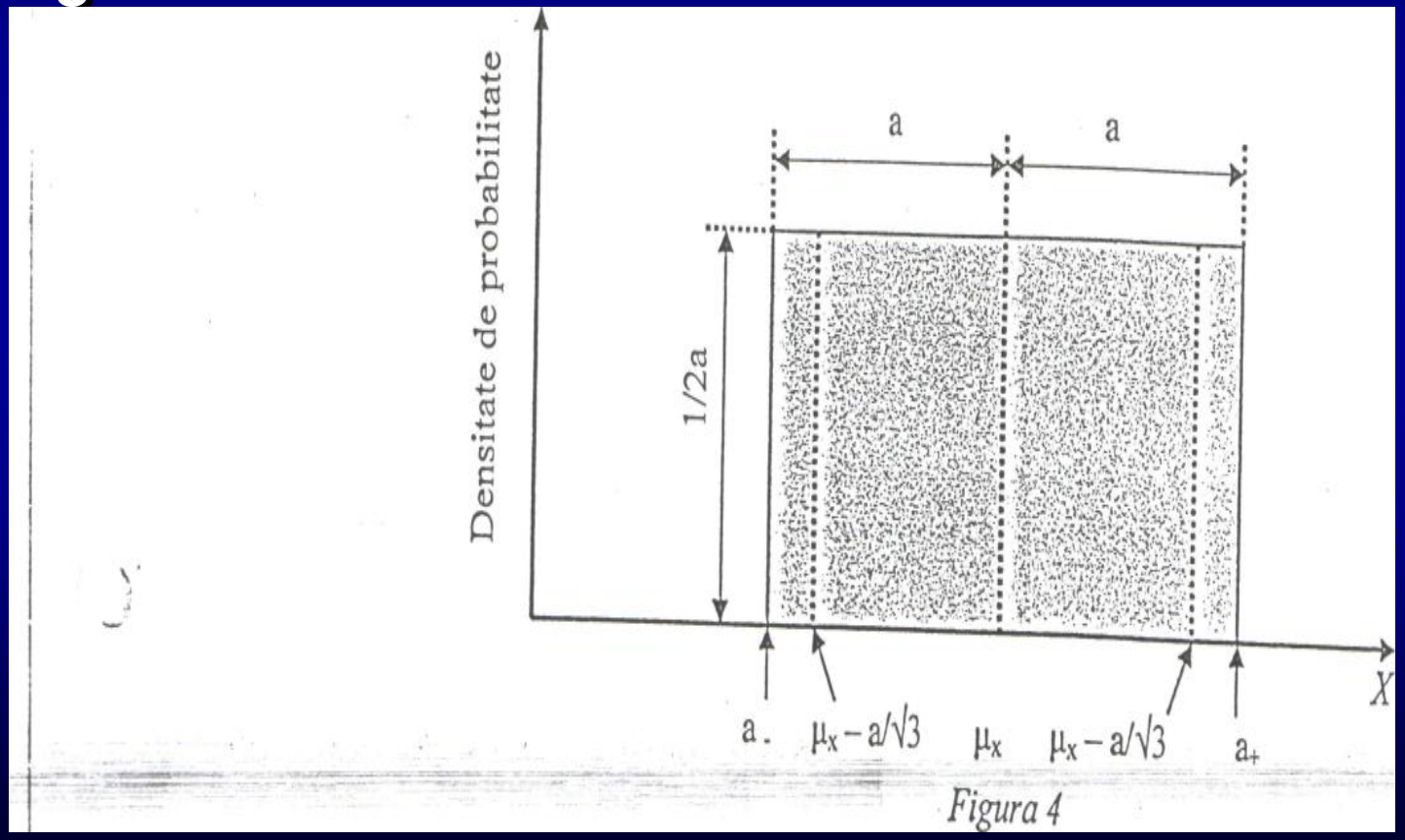


Figura 4

Distributie dreptunghiulara

- Daca diferenta dintre cele doua limite,
- (a+- a_), este notata cu 2a,
- (a_ - a+)= 2a
- atunci :
- Înlocuind în : $u^2(xi) = 1/12\ (a_ - a+)^2$ obţinem

$$u^2(xi) = (1/12)\ 4a^2 = 1/3.\ a^2$$

Incertitudinea standard u (xi) este :

$$u\ (xi) = a/\sqrt{3}$$

Distributie triunghiulară

- In multe cazuri este mai realist sa se considere ca valorile apropiate de cele limită sunt mai putin probabile decat cele apropiate de punctul de mijioc. De aceea, este rezonabil ca distributia simetrica dreptunghiulară sa fie înlocuita cu o distributie trapezoidala simetrica (un trapez isoscel), cu baza mare egala cu a+ ...- a_ = 2a si baza mica egala cu 2aβ, unde 0 < β< 1. Pentru β — > 1 aceasta distributie trapezoidala tinde catre distributia dreptunghiulara, iar pentru β= 0 aceasta devine o distributie triunghiulara ilustrată în Fig.5

Distributie triunghiulară

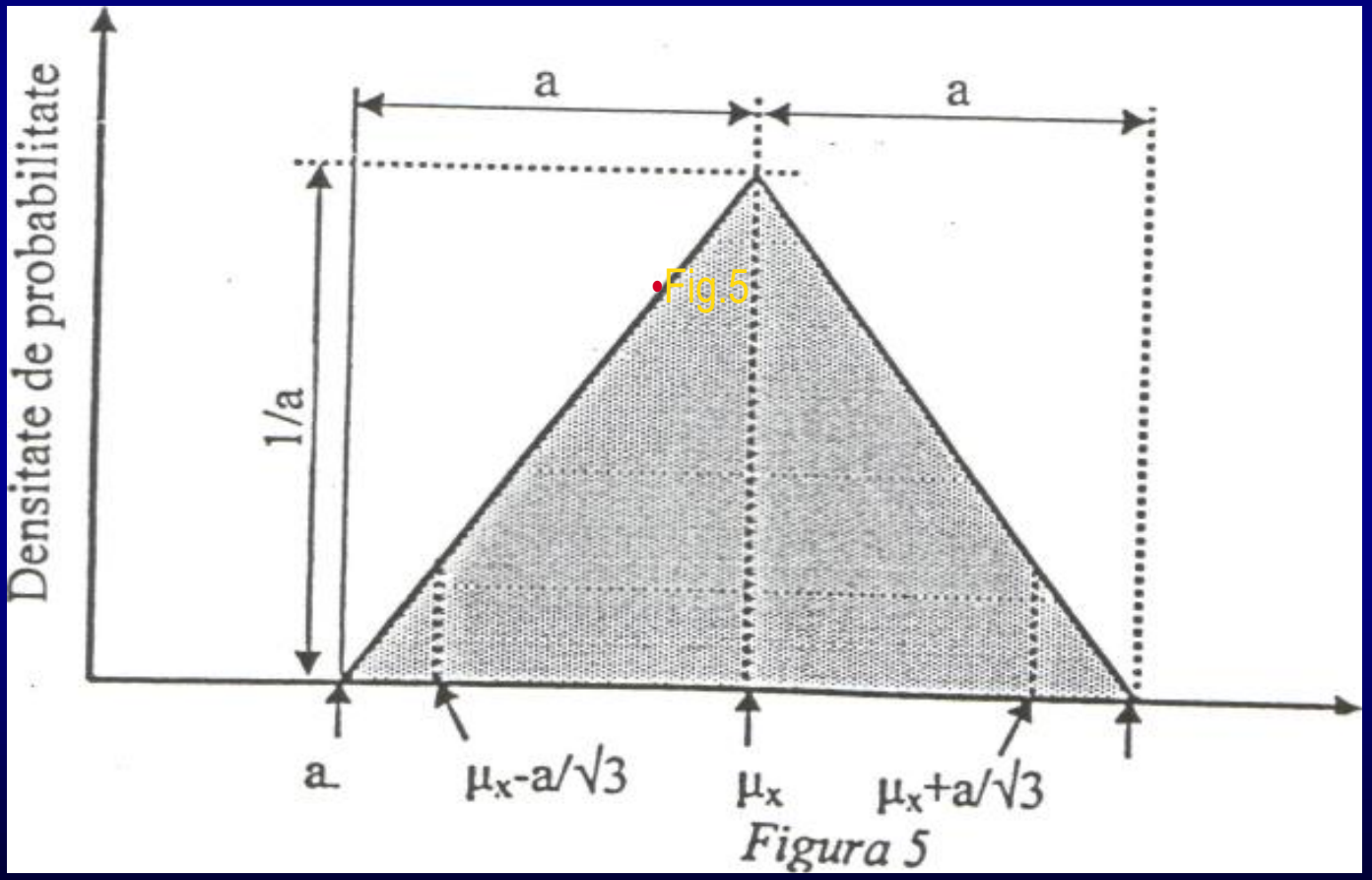


Fig.5

Figura 5

Distributie triunghiulară

- Media teoretica a lui X i , pentru o distribute trapezoidală este

  xi =1/2 (**a_ - *a+***)

  şi varianta acesteia este

  $u^2(xi)= a2(1+ \beta^2)/6$

- care pentru distributia triunghiulara când β=0 devine:

  $u^2(xi)= a2/ 6$

- Incertitudinea standard u(xi) pentru distributia triunghiulară este :

  $u(xi) = a / \sqrt{6}$

Calculul Coeficientului de variaţie

- Coeficientul de variaţie (CV) este deviaţia standard exprimată în procente din medie. of the mean
- Ideal ea trebuie să fie mai mică decât 5%

$$CV = \frac{SD}{media} \times 100$$

Deviaţia Standard şi Probabilitatea

- In general, laboratoarele utilizează drept criteriu +/- 2 SD pentru limitele acceptabile ale limitelor pentru incercare Când contolul calităţii măsurărilor QC cade în acest interval, înseamnă că nivelul de încredere este de 95.5% deci măsurările sunt corecte.
- Numai 4.5% din măsurări pot cădea în afara acestui interval de exactitate a riscului; mai probabil el va fi exact eroarea

Erori sistematice

- Erotile sistematice sunt definite ca schimbări sistematice în sistemul de testare care deplasează media distribuţiei pentru valorile standardului
- Erorile sistematice ale sistemului analitic pot fi anticipate şi cauzele schimbărilor sau trendurile cu diagramele de control.

Cauzele generale ale erorilor sistematice

- schimbarea numărului lotului reactivilor sau calibratorilor
- valoarea necoresunzătoare a standardului calibrator
- preparaea necorespunzătoare a reactivilor
- deteriorarea reactivilor şi calibratorilor
- depozitarea reactivilor şi calibratorilor
- modificarea în probe sau reactivi a volumelor datorită neajustării sau nealinierii
- modificarea temperaturii în incubator şi în blocul de rea cţie
- Deteriorarea sursei fotometrice de lumină
- Moidificarea operaţiei de la un operator la altul.

3.4. Incertitudine şi interval de incredere

- **Definiţie.**
- **Incertitudine de măsurare: parametru, asociat rezultatului unei măsurări, care caracterizaeză împrăştierea valorilor ce, în mod rezonabil, ar putea fi atribuit măsurandului.**
- Note:
- 1.Parametrul respectiv poate fi, de exemplu, o abatere standard (sau un multiplu al acesteia) sau semilărgimea unui interval de valori pentru un nivel de încredere dat.

3.4. Incertitudine şi interval de incredere

- 2. Incertitudine de măsurare cuprinde, în general, mai multe componente.Unele din aceste componente pot fi evaluate pornind de la distribuţia statistică a rezultatelor şirului de măsurări şi pot fi caracterizate prin abateri standard experimentale.Celelalte componente care pot fi de asemenea caracterizate prin abateri standard, sunt evaluate prin admiterea unor distribuţii de probabilitate bazate pe experienţă sau prin alte informaţii.
- 3.Se înţelege că rezultatul unei măsurări este cea mai bună estimaţie a valorii măsurandului şi că toate componentele incertitudinii, inclusiv cele care provin din efecte sistematice, cum ar fi componentele asociate corecţiilor şi etaloanelor de referinţă contribuie la împrăştierea rezultatelor (conform SR 13251:1996)

3.4. Incertitudine şi interval de incredere

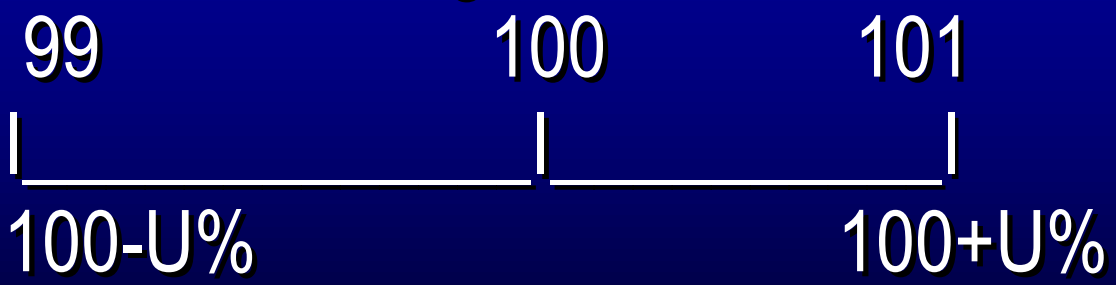
- Incertitudinea masurărilor in analiza se rasfrange ca o incertitudine şi asupra rezultatelor; aceasta incertitudine exprima marimea erorilor ce insotesc masuratorile analitice; ea se poate determina statistic, exprimandu-se prin semnul ± U % (spre ex. U= + 1 %). Semnul

  ±U

- reprezinta limitele intervalului de incredere in care se situeaza erorile determinarii.

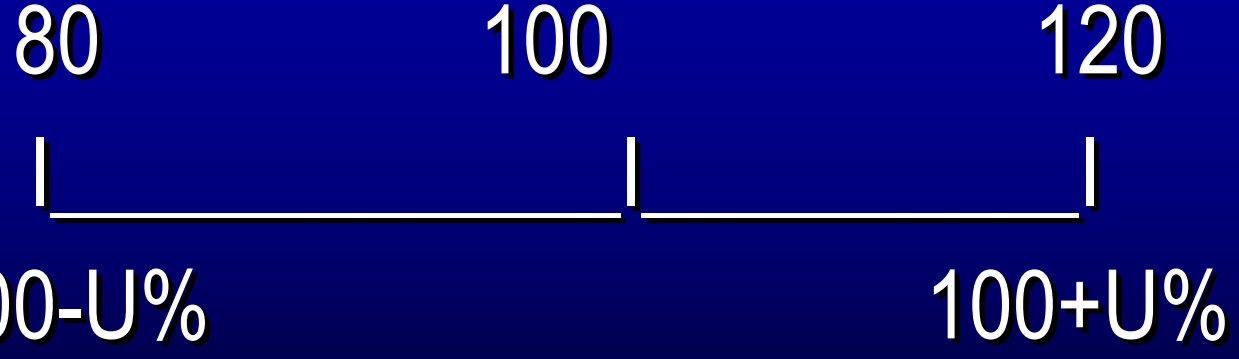
3.4. Incertitudine şi interval de incredere

- Intotdeauna rezultatele analitice trebuie sa se obtina cu o anumita exactitate şi precizie, care se fixeaza de la inceput. In tehnicile macro şi semimicroanalitice este suficienta o cunoaştere a rezultatelor unei analize cu o eroare de ±1%, marimea intervalului de incredere fiind in acest caz de doua unitati, avand lungimea de 2%, aşa cum se observa din Fig.3.4



3.4. Incertitudine şi interval de incredere

- De remarcat ca pentru analiza cantitatilor foarte mici de substanta (urme) intervalul de incredere este mult mai mare, de pana la
  - ± 20%,



European co-operation for Accreditation

Referința de Publicare

EA-4/02

Exprimarea Incertitudinii de Măsurare în Etalonări

Versiune în limba Română realizată de RENAR

SCOP

Scopul acestui document este să armonizeze evaluarea incertitudinii de măsurare în cadrul EA, să stabilească, în plus față de cerințele generale ale EAL-R1, cerințele specifice referitoare la raportarea incertitudinii în certificatele de etalonare emise de laboratoarele acreditate şi să pună la dispoziția organismelor de acreditare o atribuire coerentă a celei mai bune capabilități de măsurare laboratoarelor de etalonare acreditate de acestea. Cum regulile prezentate în acest document sunt în conformitate cu recomandările din Ghidul pentru Exprimarea Incertitudinii de Măsurare, publicat de şapte organizații internaționale din domeniile standardizării şi metrologiei, implementarea EA-4/02 va susține de asemenea acceptarea la nivel global a rezultatelor măsurărilor

Paternitatea

Acest document a fost elaborat de Echipa de lucru a EAL, în scopul revizuirii Doc. 19-1990 al WECC, în numele Comitetului 2 al EAL (Activități de Etalonare şi Încercare). Acesta cuprinde o revizuire amănunțită a Doc. 19-1990 al WECC pe care îl înlocuieşte.

Limba oficială

Textul poate fi tradus în alte limbi după necesități. Versiunea în limba engleză rămâne versiunea definitorie.

Drepturile de autor

Drepturile de autor pentru acest document sunt deținute de EA. Nu este permisă copierea textului în scopul re-vânzării.

Informații suplimentare

Pentru informații suplimentare referitoare la această publicație, contactați reprezentantul național în EA.

O listă a membrilor poate fi găsită la următoarea adresă de web:
www.european-accreditation.org

Traducerea din limba Engleză: Ionel Urdea Marcus

© RENAR Reproducerea sau utilizarea integrală sau parțială a acestei versiuni în limba Română a publicației EA-4/02 în scopul revânzării este interzisă.

CUPRINS

1	INTRODUCERE	5
2	CADRU ŞI DEFINIȚII	6
3	EVALUAREA INCERTITUDINII DE MĂSURARE A ESTIMAȚIILOR DE INTRARE	7
4	CALCULUL INCERTITUDINII STANDARD A ESTIMAȚIEI DE IEŞIRE	11
5	INCERTITUDINEA DE MĂSURARE EXTINSĂ	14
6	DECLARAREA INCERTITUDINII DE MĂSURARE ÎN CERTIFICATELE DE ETALONARE	15
7	PROCEDURA PAS CU PAS PENTRU CALCULUL INCERTITUDINII DE MĂSURARE	15
8	TRIMITERI BIBLIOGRAFICE	16
ANEXA A		17
ANEXA B		20
ANEXA C		23
ANEXA D		24
ANEXA E		27
SUPLIMENTUL 1		29
SUPLIMENTUL 2		55

1 INTRODUCERE

1.1 Acest document stabileşte principiile şi cerinţele referitoare la evaluarea incertitudinii de măsurare în operaţiile de etalonare şi la declararea acestei incertitudini în certificatele de etalonare. Tratarea este menţinută la un nivel general pentru a fi adecvată tuturor domeniilor de etalonare. Metoda descrisă ar putea fi necesar să fie completată cu indicaţii mai particularizate pentru diferite domenii, pentru a face ca informaţia să fie mai uşor de aplicat. În dezvoltarea unor astfel de ghiduri suplimentare principiile generale enunţate în acest document trebuie să fie respectate pentru a asigura armonizarea dintre diversele domenii.

1.2 Tratarea din acest document este în conformitate cu *Ghidul pentru Exprimarea Incertitudinii în Măsurări*, publicat pentru prima dată în 1993, în numele BIPM, IEC, IFCC, ISO, IUPAC, IUPAP şi OIML [ref. 1]. Dar, în timp ce [ref. 1] stabileşte reguli generale pentru evaluarea şi exprimarea incertitudinii în măsurări, care pot fi urmate în cazul celor mai multe măsurări fizice, acest document se concentrează asupra celor mai adecvate metode pentru măsurările din laboratoarele de etalonare şi descrie un mod ne-ambiguu şi armonios pentru evaluarea şi declararea incertitudinii măsurărilor. Acesta conţine următoarele subiecte:

- definiţiile de bază pentru document;
- metode pentru evaluarea incertitudinii de măsurare a mărimilor de intrare;
- relaţia între incertitudinea de măsurare a mărimii de ieşire şi incertitudinile de măsurare ale mărimilor de intrare;
- incertitudinea de măsurare extinsă a mărimii de ieşire;
- declararea incertitudinii de măsurare;
- o procedură pas cu pas pentru calcularea incertitudinii de măsurare.

Exemple rezolvate, ilustrând aplicarea metodei descrise aici în cazul unor probleme de măsurare specifice din diferite domenii, vor fi date în suplimente. Evaluarea incertitudinii de măsurare este de asemenea tratată în alte câteva documente EAL care oferă ghidare referitor la metodele de etalonare, unele dintre aceste documente conţinând exemple rezolvate specifice.

1.3 În cadrul EAL, **cea mai bună capabilitate de măsurare** (care se referă întotdeauna la o anumită mărime particulară, anume măsurandul) este definită ca fiind cea mai mică incertitudine de măsurare pe care laboratorul o poate obţine în cadrul domeniului de acreditare, atunci când execută etalonări mai mult sau mai puţin de rutină ale unor etaloane aproape ideale destinate definirii, realizării, conservării sau reproducerii unei unităţi de măsură a acelei mărimi sau a uneia sau mai multe valori ale acelei unităţi de măsură, sau atunci când se execută etalonări mai mult sau mai puţin de rutină ale unor instrumente de măsură aproape ideale proiectate pentru măsurarea acelei mărimi. Evaluarea celei mai bune capabilităţi de măsurare ale laboratoarelor acreditate trebuie să se bazeze pe metoda descrisă în acest document dar va

trebui în mod normal să fie susținută sau confirmată de dovezi experimentale. Pentru a veni în sprijinul organismelor de acreditare referitor la evaluarea celei mei bune capabilități de măsurare sunt date unele explicații suplimentare în Anexa A.

2 CADRU ŞI DEFINIȚII

Notă: Termenii cu relevanță specială pentru contextul corpului principal al documentului sunt scrise cu caractere îngroşate atunci când apar pentru prima dată în acest document. Anexa B conține un glosar al acestor termeni împreună cu trimiteri bibliografice

2.1 Declararea rezultatului unei măsurări este completă numai dacă acesta conține atât valoarea atribuită măsurandului şi incertitudinea de măsurare asociată acestei valori. În acest document, toate mărimile care nu sunt cunoscute cu exactitate sunt tratate ca **variabile aleatoare**, inclusiv mărimile de influență care pot afecta valoarea măsurată.

2.2 **Incertitudinea de măsurare** este un parametru, asociat rezultatului unei măsurări, ce caracterizează dispersia valorilor care ar putea fi în mod rezonabil atribuite măsurandului [ref. 2]. În acest document denumirea prescurtată **incertitudine** este folosită pentru **incertitudinea de măsurare** dacă nu există riscul unei interpretări greşite. Referitor la surse tipice de incertitudine, se poate consulta lista dată în Anexa C.

2.3 **Măsuranzii** sunt acele mărimi care fac obiectul măsurării. În cazul etalonării, este vorba de obicei de un singur măsurand sau **mărime de ieşire** Y, care depinde de un număr de **mărimi de intrare** X_I (I = 1, 2, …, N) conform relației funcționale:

$$Y = f(X_1, X_2, \ldots, X_N) \qquad (2.1)$$

Funcția de modelare f reprezintă procedura de măsurare şi metoda de evaluare. Aceasta descrie cum se obțin valorile mărimii de ieşire Y din valorile mărimilor de intrare X_i. În cele mai multe cazuri aceasta va fi o expresie analitică, dar poate fi de asemenea un grup de astfel de expresii care includ corecțiile şi factorii de corecție pentru efectele sistematice, ajungându-se astfel la o relație mai complicată, care nu este scrisă explicit ca o singură funcție. Mai mult, f poate fi determinată experimental, sau poate exista doar ca un algoritm de computer care necesită o evaluare numerică, sau poate of o combinație din toate acestea.

2.4 Setul de mărimi de intrare X_i poate fi grupat în două categorii după modul în care au fost determinate valoarea mărimii şi incertitudinea asociată acesteia:

(a) mărimile ale căror estimații şi incertitudini asociate sunt determinate direct în cadrul măsurării curente. Aceste valori pot fi obținute, de exemplu, în urma unei singure observări, a unor observări repetate, sau a unei judecăți bazate pe experiență. Acestea pot include determinarea corecțiilor pentru indicațiile instrumentelor, ca şi corecțiile

pentru mărimile de influență, cum ar fi temperatura ambiantă, presiunea barometrică sau umidității;

(b) mărimi ale căror estimații şi incertitudini asociate sunt introduse în măsurare din surse externe, cum ar fi mărimile asociate cu etaloanele etalonate, materialele de referință certificate sau datele de referință obținute din manuale.

2.5 O estimație a măsurandului *Y*, **estimația de ieşire** notată cu *y*, se obține din ecuația (2.1) folosind **estimațiile de intrare** x_i pentru valorile mărimilor de intrare X_i

$$y = f(x_1, x_2, \ldots, x_N) \qquad (2.2)$$

Se înțelege că valorile mărimilor de intrare sunt cele mai bune estimații care au fost corectate pentru a lua în considerare toate efectele semnificative pentru model. În caz contrar, corecțiile necesare au fost introduse ca mărimi de intrare separate.

2.6 Pentru o variabilă aleatoare **varianța** distribuției sale sau valoarea pozitivă a rădăcinii pătrate a variației, numită **abatere standard**, este utilizată ca o măsură a dispersiei valorilor sale. **Incertitudinea standard a măsurării** asociată cu estimația de ieşire sau rezultatul măsurării *y*, notată cu *u(y)*, este abaterea standard a măsurandului *Y*. Aceasta urmează a fi determinată din estimațiile x_i ale mărimilor de intrare X_i şi incertitudinile standard asociate acestora $u(x_i)$. Incertitudinea standard asociată unei estimații are aceiaşi dimensiune ca şi estimația. În anumite cazuri, poate fi adecvată **incertitudinea standard relativă a măsurării**, care este raportul dintre incertitudinea standard a măsurării asociată cu o estimație şi modulul acelei estimații şi este prin urmare adimensională. Acest concept nu poate fi utilizat dacă estimația este egală cu zero.

3 EVALUAREA INCERTITUDINII DE MĂSURARE A ESTIMAȚIILOR DE INTRARE

3.1 Considerații Generale

3.1.1 Incertitudinea măsurării asociată cu estimațiile de intrare este evaluată conform metodei de evaluare fie de 'Tip A' fie de 'Tip B'. **Evaluarea de Tip A a incertitudinii standard** este metoda de evaluare a incertitudinii prin analiza statistică a unei serii de observații. În acest caz, incertitudinea standard este abaterea standard experimentală a mediei care rezultă dintr-o procedură de mediere sau dintr-o analiză regresivă adecvată. **Evaluarea de Tip B a incertitudinii standard** este metoda de evaluarea a incertitudinii prin alte mijloace decât analiza statistică a unei serii de observații. În acest caz, evaluarea incertitudinii standard se bazează pe alte cunoştințe ştiințifice.

Notă: Există situații, rar întâlnite în etalonări, în care toate valorile posibile ale unei mărimi se situează de o singură parte a unei valori limită unice. Un caz binecunoscut este aşa-numita eroare de cosinus. Pentru tratarea unor astfel de cazuri speciale, a se vedea ref. [1].

3.2 Evaluarea de Tip A a incertitudinii standard

3.2.1 Evaluarea de Tip A a incertitudinii standard poate fi aplicată atunci când au fost efectuate mai multe observații independente ale uneia dintre mărimile de intrare în aceleaşi condiții de măsurare. Dacă procesul de măsurare are suficientă rezoluție, atunci va exista o împrăştiere sau dispersie a valorilor obținute.

3.2.2 Să presupunem că mărimea de intrare măsurată în mod repetat X_i este mărimea Q. Pentru n observații independente ($n > 1$), estimația mărimii Q este $\bar{q}$, **media aritmetică** sau **media** valorilor individuale observate q_j ($j = 1, 2, \ldots, n$)

$$\bar{q} = \frac{1}{n}\sum_{j=1}^{n} q_j \tag{3.1}$$

Incertitudinea măsurării asociată cu estimația $\bar{q}$ se evaluează în conformitate cu una dintre următoarele metode:

(a) O estimație a variației distribuției de probabilitate aplicabile este **varianța experimentală** $s^2(q)$ a valorilor q_j, care este dată de

$$s^2(q) = \frac{1}{n-1}\sum_{j=1}^{n} (q_j - \bar{q})^2 \tag{3.2}$$

Rădăcina pătrată (pozitivă) a acesteia este denumită **abatere standard experimentală**. Cea mai bună estimație a variației mediei aritmetice $\bar{q}$ este **varianța experimentală a mediei** dată de

$$s^2(\bar{q}) = \frac{s^2(q)}{n} \tag{3.3}$$

Rădăcina pătrată (pozitivă) a acesteia este denumită **abatere standard experimentală a mediei**. Incertitudinea standard $u(\bar{q})$ asociată estimației de intrare $\bar{q}$ abaterea standard experimentală a mediei

$$u(\bar{q}) = s(\bar{q}) \tag{3.4}$$

Atenție: În general, atunci când numărul n de măsurări repetate este redus ($n < 10$), încrederea în evaluarea de Tip A a incertitudinii standard, exprimată prin ecuația (3.4), trebuie pusă la îndoială. Dacă numărul de observații nu poate fi crescut, trebuie luate în considerare alte mijloace de evaluare a incertitudinii standard date în text.

(b) În cazul unei măsurări care este bine caracterizată şi se află sub control statistic, poate fi disponibilă o **estimație** combinată sau **globală**[1] **a variației** s_p^2, care caracterizează mai bine dispersia decât abaterea standard estimată obținută dintr-un număr limitat de observații. Dacă într-un astfel de caz valoarea mărimii de intrare Q este determinată ca medie aritmetică $\bar{q}$ a unui număr mic de observații independente, varianța mediei poate fi estimată prin

$$s^2(\bar{q}) = \frac{s_p^2}{n} \tag{3.5}$$

Incertitudinea standard se deduce din această valoare în conformitate cu ecuația (3.4).

3.3 Evaluarea incertitudinii standard de Tip B

3.3.1 Evaluarea incertitudinii standard de Tip B este evaluarea incertitudinii asociate cu o estimație x_i a unei mărimi de intrare X_i prin mijloace altele decât analiza statistică a unei serii de observații. Incertitudinea standard $u(x_i)$ este evaluată prin raționament ştiințific bazat pe toate informațiile disponibile asupra variației posibile a mărimii X_i. Valorile aparținând acestei categorii pot fi determinate din

- date din măsurări anterioare;
- experiență sau cunoştințe generale asupra comportamentului şi proprietăților materialelor şi instrumentelor relevante;
- specificațiile fabricantului;
- date furnizate în certificate de etalonare şi în alte certificate;
- incertitudini atribuite datelor de referință preluate din manuale.

3.3.2 Utilizarea corectă a informației disponibile pentru evaluarea de Tip B a incertitudinii standard a măsurării necesită o cunoaştere profundă bazată pe experiență şi pe cunoştințe generale. Aceasta este o abilitate ce poate fi dobândită acumulând experiență practică. O evaluare a incertitudinii standard de Tip B bine fundamentată poate oferi la fel de multă încredere ca şi o evaluare a incertitudinii standard de Tip A, în special în cazul unei măsurări în care evaluarea de Tip A se bazează numai pe un număr comparativ mic de observații statistic independente. Trebuie deosebite următoarele cazuri:

(a) Atunci când se cunoaşte numai o **valoare unică** pentru mărimea X_i, de exemplu, o singură valoare măsurată, o valoare rezultantă dintr-o măsurare anterioară, o valoare de referință din literatură sau o valoare de corecție, se va folosi această valoare pentru x_i. Incertitudinea standard $u(x_i)$ asociată cu x_i urmează să fie adoptată acolo unde este dată. Altfel, aceasta trebuie calculată din date de incertitudine ne-

[1] În limba Engleză *pooled estimate of variance* (Nota trad.)

echivoce. Dacă astfel de date nu sunt disponibile, incertitudinea trebuie evaluată pe baza experienței.

(b) Atunci când se poate asuma o distribuție de probabilitate pentru mărimea X_i, bazată pe teorie sau pe experiență, atunci media statistică adecvată sau valoarea aşteptată şi rădăcina pătrată a variantei acestei distribuții trebuie să fie considerate ca fiind estimația x_i şi, respectiv, incertitudinea standard asociată $u(x_i)$.

(c) Dacă pot fi estimate numai **limitele superioară** şi **inferioară** a_+ şi a_- pentru mărimea de intrare X_i (de exemplu, specificația fabricantului pentru un instrument de măsură, un domeniu de temperaturi, o eroare de rotunjire sau de trunchiere rezultată dintr-o reducere automată a datelor), trebuie asumată o probabilitate de distribuție cu o densitate de probabilitate constantă între aceste limite (o distribuție de probabilitate rectangulară) pentru variația posibilă a mărimii de intrare X_i. În conformitate cu cazul (b) de mai sus, aceasta conduce la

$$x_i = \frac{1}{2}(a_+ + a_-) \tag{3.6}$$

pentru valoarea estimată şi

$$u^2(x_i) = \frac{1}{12}(a_+ - a_-)^2 \tag{3.7}$$

pentru pătratul incertitudinii standard. Dacă diferența dintre cele două valori limită este notată cu 2a, ecuația (3.7) devine

$$u^2(x_i) = \frac{1}{3}a^2 \tag{3.8}$$

Distribuția rectangulară reprezintă o descriere rezonabilă în termeni de probabilitate a cunoaşterii insuficiente a mărimii de intrare X_i în absența oricărei alte informații în afară de limitele sale de variație. Dar dacă se ştie că valorile mărimii respective din vecinătatea centrului domeniului de variație sunt mai probabile decât valorile din apropierea limitelor, o distribuție triunghiulară sau normală ar putea reprezenta un model mai bun. Pe de altă parte, dacă valorile din apropierea limitelor sunt mai probabile decât valorile din vecinătatea centrului, o distribuție în formă de U ar putea fi mai adecvată.

4 CALCULUL INCERTITUDINII STANDARD A ESTIMAȚIEI DE IEŞIRE

4.1 Pentru mărimi de intrare necorelate, pătratul incertitudinii standard asociate estimației de ieşire *y* este dat de

$$u^2(y) = \sum_{i=1}^{N} u_i^2(y) \tag{4.1}$$

Notă: Există situații, care apar rareori în etalonări, în care funcția de modelare este puternic neliniară sau unii dintre coeficienții de sensibilitate [a se vedea ecuațiile (4.2) şi (4.3)] dispar şi trebuie să fie

incluşi termeni de ordin superior în ecuația (4.1). Pentru o tratare a unor astfel de cazuri a se vedea ref. [1].

Mărimea $u_i(y)$ ($i = 1, 2, \ldots, N$) este contribuția la incertitudinea standard asociată estimației de ieşire y care rezultă din incertitudinea standard asociată estimației de intrare x_i

$$u_i(y) = c_i u(x_i) \tag{4.2}$$

unde c_i este **coeficientul de sensibilitate** asociat estimației de intrare x_i, adică derivata parțială a funcției de modelare f față de X_i, evaluată pentru estimațiile de intrare x_i,

$$c_i = \frac{\partial f}{\partial x_i} = \left.\frac{\partial f}{\partial X_i}\right|_{X_1 = x_1 \cdots X_N = x_N} \tag{4.3}$$

4.2 Coeficientul de sensibilitate c_i descrie măsura în care estimația de ieşire y este influențată de variațiile estimației de intrare x_i. Acesta poate fi evaluat cu ajutorul funcției de modelare f conform ecuației (4.3) sau folosind metode numerice, ceea ce înseamnă calcularea variației estimației de ieşire y datorată unei variații a estimației de intrare x_i cu $+u(x_i)$ şi cu $-u(x_i)$ şi considerând drept valoare a lui c_i variația rezultantă a lui y raportată la $2u(x_i)$. Uneori ar putea fi mai adecvat să se determine variația estimației de ieşire y experimental, prin repetarea măsurării pentru, de exemplu, $x_i \pm u(x_i)$.

4.3 În timp ce $u(x_i)$ este întotdeauna pozitiv, contribuția lui $u_i(y)$ conform ecuației (4.2) este fie pozitivă fie negativă, în funcție de semnul coeficientului de sensibilitate c_i. Semnul lui $u_i(y)$ trebuie să fie luat în considerare în cazul mărimilor de intrare corelate, a se vedea ecuația (D4) din Anexa D.

4.4 Dacă funcția de modelare f este o sumă sau o diferență a mărimilor de intrare X_i

$$f(X_1, X_2, \ldots, X_N) = \sum_{i=1}^{N} p_i X_i \tag{4.4}$$

estimația de ieşire este, conform ecuației (2.2) este dată de suma sau diferența corespunzătoare a estimațiilor de intrare.

$$y = \sum_{i=1}^{N} p_i x_i \tag{4.5}$$

în care coeficientul de sensibilitate este egal cu p_i şi ecuația (4.1) devine

$$u^2(y) = \sum_{i=1}^{N} p_i^2 u^2(x_i) \tag{4.6}$$

4.5 Dacă funcția de modelare f este un produs sau un raport al mărimilor de intrare X_i

$$f(X_1, X_2, \ldots, X_N) = c\prod_{i=1}^{N} X_i^{p_i} \tag{4.7}$$

estimația de ieşire este produsul sau raportul corespunzător al estimațiilor de intrare

$$y = c\prod_{i=1}^{N} x_i^{p_i} \tag{4.8}$$

În acest caz, coeficienții de sensibilitate sunt egali cu $p_i y/x_i$ şi, dacă se introduc incertitudini standard relative $w(y) = u(y)/|y|$ şi $w(x_i) = u(x_i)/|x_i|$, se obține din ecuația (4.1) o expresie analogă ecuației (4.6),

$$w^2(y) = \sum_{i=1}^{N} p_i^2 w^2(x_i) \tag{4.9}$$

4.6 Dacă două mărimi de intrare X_i şi X_k sunt **corelate** într-un anumit grad, adică sunt mutual dependente una de cealaltă, **covarianța** lor trebuie să fie de asemenea considerată ca o contribuție la incertitudine. A se vedea Anexa D în ce priveşte modul în care se procedează. Abilitatea de a lua în considerare efectul corelațiilor depinde de cunoaşterea procesului de măsurare şi de analiza dependenței mutuale dintre mărimile de intrare. În general, trebuie avut în vedere faptul că neglijarea corelațiilor dintre mărimile de intrare poate conduce la o evaluare incorectă a incertitudinii standard a măsurandului.

4.7 Covarianța asociată cu estimațiile celor două mărimi X_i şi X_k poate fi considerată a fi zero sau neglijabilă dacă

(a) mărimile de intrare X_i şi X_k sunt independente, de exemplu, deoarece au fost observate în mod repetat dar nu simultan în experimente independente diferite sau deoarece reprezintă mărimile rezultante din evaluări diferite care au fost efectuate independent, sau dacă

(b) oricare dintre cele două mărimi de intrare X_i şi X_k poate fi considerată constantă, sau dacă

(c) analiza efectuată nu oferă nici o indicație despre existența unei corelații între mărimile de intrare X_i şi X_k.

Uneori corelațiile pot fi eliminate prin alegerea adecvată a funcției de modelare.

4.8 Analiza incertitudinii unei măsurări — numită uneori buget de incertitudine al măsurării — trebuie să includă o listă a tuturor surselor de incertitudine împreună cu incertitudinile de măsurare standard asociate şi metodele pentru evaluarea acestora. Pentru măsurări repetate, numărul n de observații trebuie de asemenea să fie specificat. Din motive de claritate, se recomandă să se prezinte datele relevante pentru această analiză sub forma unui tabel. În acest tabel, toate mărimile trebuie să fie reprezentate printr-un simbol fizic X_i sau un identificator scurt. Pentru fiecare dintre acestea, trebuie să se

specifice cel puțin estimația x_i, incertitudinea de măsurare standard asociată $u(x_i)$, coeficientul de sensibilitate c_i şi diferitele contribuții la incertitudine $u_i(y)$. Dimensiunea fiecăreia dintre mărimi trebuie de asemenea specificată împreună cu valorile numerice date în tabel.

4.9 Un exemplu formal de astfel de aranjament este dat ca Tabelul 4.1, aplicabil pentru cazul mărimilor de intrare necorelate. Incertitudinea standard asociată cu rezultatul măsurării $u(y)$ dată în colțul din dreapta jos al tabelului este rădăcina pătrată a sumei pătratelor tuturor contribuțiilor la incertitudine din ultima coloană din dreapta. Partea gri a tabelului nu se completează

Tabelul 4.1: Structura unui aranjament ordonat al mărimilor, estimațiilor, incertitudinilor standard, coeficienților de sensibilitate şi contribuțiilor la incertitudine utilizat pentru analiza incertitudinii unei măsurări

Mărimea	Estimația	Incertitudinea standard	Coeficientul de sensibilitate	Contribuția la incertitudinea standard
X_i	x_i	$u(x_i)$	c_i	$u_i(y)$
X_1	x_1	$u(x_1)$	c_1	$u_1(y)$
X_2	x_2	$u(x_2)$	c_2	$u_2(y)$
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮
X_N	x_N	$u(x_N)$	c_N	$u_N(y)$
Y	y			$u(y)$

5 INCERTITUDINEA DE MĂSURARE EXTINSĂ

5.1 În cadrul EAL s-a decis ca laboratoarele de etalonări acreditate de către membri ai EAL să declare o **incertitudine de măsurare extinsă** U, obținută prin multiplicarea incertitudinii standard $u(y)$ a estimației de ieşire y cu un **factor de acoperire** k,

$$U = ku(y) \tag{5.1}$$

În cazurile în care se poate atribui măsurandului o distribuție Gaussiană şi în care incertitudinea standard asociată estimației de ieşire prezintă suficient de multă încredere, se va folosi factorul de acoperire standard $k = 2$. Incertitudinea extinsă atribuită corespunde unei **probabilități de acoperire** de aproximativ 95%. Aceste condiții sunt îndeplinite în majoritatea situațiilor întâlnite în activitatea de etalonare.

5.2 Ipoteza unei distribuții normale nu poate fi uşor confirmată experimental întotdeauna. Totuşi, în cazurile în care mai multe (adică $N \geq 3$) componente ale incertitudinii, derivând din distribuții de probabilitate cu alură regulată ale unor mărimi independente ca, de exemplu, distribuții normale sau distribuții rectangulare, au contribuții comparabile la incertitudinea standard asociată estimației de ieşire, sunt îndeplinite condițiile Teoremei Limitei Centrale şi se

poate presupune, cu un grad înalt de aproximare, că distribuția mărimii de ieşire este normală.

5.3 Gradul de încredere al incertitudinii standard atribuite estimației de ieşire este determinat de numărul său efectiv de grade de libertate (a se vedea Anexa E). Totuşi, criteriul încrederii este întotdeauna îndeplinit dacă nici una dintre contribuțiile la incertitudine nu este obținută printr-o evaluare de Tip A bazată pe mai puțin de zece observații repetate.

5.4 Dacă una dintre aceste condiții (normalitate sau încredere suficientă) nu este îndeplinită, factorul de acoperire standard $k = 2$ poate conduce la o incertitudine extinsă ce corespunde unei probabilități de acoperire de mai puțin de 95%. În aceste cazuri, pentru a asigura că valoarea incertitudinii extinse este estimată corespunzător aceleiaşi probabilități de acoperire ca şi în cazul normal, trebuie urmate alte proceduri. Utilizarea a aproximativ aceluiaşi factor de acoperire este esențială ori de câte ori trebuie comparate două rezultate ale măsurării aceleiaşi mărimi, de exemplu atunci când se evaluează rezultatele unei comparații inter-laboratoare sau atunci când se evaluează conformitatea cu o specificație.

5.5 Chiar dacă se poate presupune o distribuție normală, se poate întâmpla ca incertitudinea standard asociată estimației de ieşire să prezinte insuficientă încredere. Dacă, într-o astfel de situație, nu este practic să se crească numărul n de măsurări repetate sau să se folosească o evaluare de Tip B în locul evaluării de tip A cu grad de încredere redus, trebuie utilizată metoda dată în Anexa E.

5.6 Pentru situațiile rămase, adică toate cazurile în care nu se justifică ipoteza unei distribuții normale , trebuie să se folosească informații asupra distribuției reale de probabilitate a estimației de ieşire pentru a obține o valoare a factorului de acoperire k ce corespunde unei probabilități de acoperire de aproximativ 95%.

6 DECLARAREA INCERTITUDINII DE MĂSURARE ÎN CERTIFICATELE DE ETALONARE

6.1 În certificatele de etalonare trebuie sa fie înscris rezultatul complet al măsurării constând în estimația y a măsurandului şi incertitudinea extinsă asociată U în forma ($y \pm U$). La aceasta trebuie să se adauge o notă explicativă, care, în cazul general, trebuie să aibă următorul conținut:

> *Incertitudinea de măsurare extinsă declarată reprezintă incertitudinea de măsurare standard multiplicată cu factorul de acoperire k = 2, care, în cazul unei distribuții normale corespunde unei probabilități de acoperire de aproximativ 95%. Incertitudinea standard a măsurării a fost determinată în conformitate cu Publicația EAL-R2 a EAL.*

6.2 Totuşi, în cazurile în care s-a aplicat procedura din Anexa E, nota explicativă trebuie să fie formulată după cum urmează:

> *Incertitudinea de măsurare extinsă declarată reprezintă incertitudinea standard a măsurării multiplicată cu factorul de acoperire k = XX, care, pentru o distribuție t, cu ν_{eff} = YY grade de libertate efective, corespunde unei probabilități de acoperire de aproximativ 95%. Incertitudinea de măsurare standard a fost determinată în conformitate cu Publicația EAL-R2 a EAL.*

6.3 Valoarea numerică a incertitudinii de măsurare trebuie dată cu cel mult două cifre semnificative. În declarația finală, valoarea numerică a rezultatului măsurării trebuie în mod normal să fie rotunjită la ultima cifră semnificativă a valorii incertitudinii extinse asociată rezultatului măsurării. În procesul de rotunjire, trebuie folosite regulile obişnuite de rotunjire a numerelor (pentru detalii suplimentare în ce priveşte rotunjirea, a se vedea ISO 31-0:1992, Anexa B). totuşi, dacă prin rotunjire valoarea numerică a incertitudinii de măsurare se reduce cu mai mult de 5%, trebuie să se folosească rotunjirea prin adaos.

7 PROCEDURA PAS CU PAS PENTRU CALCULUL INCERTITUDINII DE MĂSURARE

7.1 Ceea ce urmează este un ghid pentru utilizarea acestui document în practică (conform exemplelor rezolvate din Anexa F şi din documentele suplimentare separate):

(a) Exprimați în termeni matematici dependența măsurandului (mărimea de ieşire) Y de mărimile de intrare X_I conform ecuației (2.1). În cazul unei comparații directe a două etaloane ecuația poate fi foarte simplă, de exemplu, $Y = X_1 + X_2$.

(b) Identificați şi aplicați toate corecțiile.

(c) Listați toate sursele de incertitudine în forma unei analize de incertitudine în conformitate cu Capitolul 4.

(d) Calculați incertitudinea standard $u(\bar{q})$ pentru mărimile măsurate în mod repetat, în conformitate cu sub-capitolul 3.2.

(e) Pentru valorile singulare, de exemplu, valorile rezultante din măsurări anterioare, valori de corecție sau valori din literatură, adoptați incertitudinea standard atunci când aceasta este dată sau se poate calcula în conformitate cu paragraful 3.3.2 (a). Acordați atenție reprezentării incertitudinii utilizate. Dacă nu există date disponibile din care să poată fi determinată incertitudinea standard, declarați o valoare pentru $u(x_i)$ pe baza experienței ştiințifice.

(f) Pentru mărimile de intrare pentru care distribuția de probabilitate este cunoscută sau poate fi presupusă, calculați media statistică (valoarea aşteptată) şi incertitudinea standard $u(x_i)$ conform paragrafului 3.3.2 (b). Dacă se dau numai limitele superioară şi inferioară, sau dacă acestea pot fi estimate, calculați incertitudinea standard $u(x_i)$ în conformitate cu paragraful 3.3.2 (c).

(g) Calculați contribuția $u_i(y)$ la incertitudinea asociată estimației de ieşire rezultată din estimația de intrare x_i, pentru fiecare mărime de intrare X_i, conform ecuațiilor (4.2) şi (4.3) şi calculați suma pătratelor acestora, aşa cum se arată în ecuația (4.1) pentru a obține pătratul incertitudinii standard $u(y)$ a măsurandului. Dacă se ştie că mărimile de intrare sunt corelate, aplicați procedura descrisă în Anexa D.

(h) Calculați incertitudinea extinsă U multiplicând incertitudinea standard $u(y)$ asociată estimației de ieşire cu un factor de acoperire k ales în conformitate cu Capitolul 5.

(i) Înscrieți în certificatul de etalonare rezultatul măsurării, care cuprinde estimația y a măsurandului, incertitudinea de măsurare extinsă U şi factorul de acoperire k, conformitate cu Capitolul 6.

8 TRIMITERI BIBLIOGRAFICE

[1] *Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement*, [1] first edition, 1993, corrected and reprinted 1995, International Organization for Standardization (Geneva, Switzerland).

[2] *International Vocabulary of Basic and General Terms in Metrology*,[2] second edition, 1993, International Organization for Standardization (Geneva, Switzerland).

[3] International Standard ISO 3534-1, *Statistics - Vocabulary and symbols - Part I: Probability and General Statistical Terms*,[3] first edition, 1993, International Organization for Standardization (Geneva, Switzerland).

1 Ghid pentru Exprimarea Incertitudinii în Măsurări (în limba Engleză - Nota trad.)
2 Vocabular Internațional de Termeni Fundamentali şi Generali în Metrologie (în limba Engleză - Nota trad.)
3 Statistică – Vocabular şi Simboluri – Partea I: Termeni de Probabilități şi Statistică Generală (în limba Engleză - Nota trad.)

ANEXA A

Comentarii asupra evaluării celei mai bune capabilități de măsurare

A1 Cea mai bună capabilitate de măsurare (a se vedea Capitolul 1 din corpul principal al textului acestui document) este unul dintre parametrii folosiți pentru a defini **domeniul** unui laborator acreditat, ceilalți fiind mărimea fizică, metoda de etalonare sau tipul de instrument ce urmează a fi etalonat şi domeniul de măsurare. Cea mai bună capabilitate de măsurare este în mod normal declarată în **programul de acreditare** sau în altă documentație care susține fie **decizia de acreditare** fie **certificatul de acreditare**, care în multe cazuri este emis ca dovadă a acreditării. Câteodată, este declarată atât în programul de acreditare cât şi în documentele de susținere. Cea mai bună capabilitate de măsurare este una dintre informațiile esențiale, care poate fi găsită în listele cu laboratoare acreditate ce sunt publicate cu regularitate de către organismele de acreditare şi sunt folosite de clienții potențiali ai laboratoarelor acreditate pentru a judeca adecvarea unui laborator de a efectua anumite activități de etalonare, în cadrul laboratorului sau la fața locului.

A2 Pentru a face posibilă compararea capabilităților diferitelor laboratoare de etalonări, în particular, laboratoarele acreditate de diferitele organisme de acreditare, este necesar ca declararea celei mai bune capabilități de măsurare să fie armonizată. Pentru a facilita acest lucru, se dau mai jos unele explicații asupra termenului cea mai bună capabilitate de măsurare, pe baza definiției acesteia aşa cum este dată în corpul principal al textului acestui document.

A3 Prin 'etalonări mai mult sau mai puțin de rutină' se înțelege faptul că laboratorul este în măsură să atingă capabilitatea declarată în cadrul activității **normale** pe care o desfăşoară sub acoperirea acreditării sale. Evident că sunt situații în care laboratorul ar putea să realizeze performanțe mai bune, ca rezultat al cercetărilor ştiințifice (în care ca acestea devin etalonările de tipul 'mai mult sau mai puțin de rutină' ale laboratorului).

A4 Includerea în definiție a calificativului 'aproape ideal' înseamnă că cea mai bună capabilitate de măsurare nu trebuie să depindă de caracteristicile aparatului supus etalonării. Inerentă conceptului de a fi 'aproape ideal' din definiție, este ideea că nu trebuie să existe nici o contribuție semnificativă la incertitudinea de măsurare ce poate fi atribuită unor efecte fizice ce pot fi legate de imperfecțiunile aparatului supus etalonării. Totuşi, trebuie să se înțeleagă că un astfel de aparat trebuie să fie disponibil. Dacă se stabileşte că, într-un caz particular, chiar şi cel mai 'ideal' aparat disponibil contribuie la incertitudinea de măsurare, această contribuție trebuie să fie inclusă în determinarea celei mai bune capabilități de măsurare şi trebuie să se stipuleze într-o declarație că cea mai bună capabilitate de măsurare se referă la etalonarea acelui tip de aparat.

A5 Definiția celei mai bune capabilități de măsurare implică faptul că, în cadrul **acreditării sale**, un laborator nu are dreptul să declare o incertitudine de măsurare mai mică decât cea mai bună capabilitate de măsurare. Aceasta înseamnă că laboratorului i se va cere să declare o incertitudine mai mare decât cea care corespunde celei mai bune capabilități de măsurare ori de câte ori se stabileşte că procesul real de etalonare aduce un aport semnificativ la incertitudinea de măsurare. De obicei, echipamentul supus etalonării poate să aducă o contribuție. Este evident că incertitudinea de măsurare **reală** nu poate niciodată să fie mai mică decât cea mai bună capabilitate de măsurare. Atunci când declară incertitudinea reală, laboratorului I se va cere să aplice principiile din prezentul document.

A6 Trebuie remarcat faptul că, în conformitate cu definiția celei mai bune capabilități de măsurare, conceptul este aplicabil numai rezultatelor pentru care laboratorul face uz de statutul său de laborator acreditat. Astfel, strict vorbind, termenul are un caracter administrativ şi nu trebuie neapărat să reflecte capabilitatea tehnică reală a laboratorului. Trebuie să fie posibil pentru un laborator să solicite acreditarea cu o incertitudine de măsurare mai mare decât i-ar permite capabilitatea sa tehnică, dacă laboratorul are rațiunile sale interne pentru a face acest lucru. Astfel de rațiuni interne sunt de obicei legate de situațiile în care trebuie păstrată confidențialitatea asupra capabilității reale față de clienții externi, de exemplu, atunci când se desfăşoară lucrări de cercetare şi dezvoltare sau atunci când se furnizează servicii unor clienți speciali. Politica organismului de acreditare trebuie să fie una de acordare a acreditării la orice nivel solicitat, dacă laboratorul este capabil să execute etalonări la acel nivel. (Această observație se referă nu numai la cea mai bună capabilitate de măsurare ci la toți parametrii care definesc domeniul de acreditare al laboratorului.)

A7 Evaluarea celei mai bune capabilități de măsurare revine în sarcina organismului de acreditare. Estimarea incertitudinii de măsurare care defineşte cea mai bună capabilitate de măsurare trebuie să urmărească procedura descrisă în prezentul document, cu excepția cazului la care se referă sub-capitolul anterior. Cea mai bună capabilitate de măsurare trebuie să fie declarată la acelaşi nivel cu cel cerut de certificatele de etalonare, anume sub forma unei incertitudini de măsurare extinsă, în mod normal cu un factor de acoperire $k = 2$. (Numai în acele situații excepționale în care nu se poate presupune existența unei distribuții normale sau în care evaluarea se bazează pe un număr limitat de date, cea mai bună capabilitate de măsurare trebuie să fie declarată astfel încât să corespundă unei probabilități de acoperire de aproximativ 95%. A se vedea Capitolul 5 din corpul principal al textului.)

A8 Toate componentele care au o contribuție semnificativă la incertitudinea de măsurare trebuie să fie luate în considerare atunci când se evaluează cea mai bună capabilitate de măsurare. Evaluarea contribuțiilor despre care se ştie că variază în timp sau în funcție de alte mărimi fizice pot lua în considerare limite de variație posibilă în condiții normale de lucru. De exemplu, dacă se ştie că etalonul de lucru utilizat are o derivă în timp, contribuția datorată acestei derive între două etalonări succesive ale

etalonului trebuie să fie luată în considerare atunci când se evaluează contribuția etalonului de lucru.

A9 În anumite domenii, incertitudinea de măsurare poate depinde de unii parametri adiționali, cum ar fi frecvența tensiunii aplicate la etalonarea rezistoarelor etalon. Astfel de parametri adiționali trebuie să fie declarați împreună cu mărimea fizică respectivă şi cea mai bună capabilitate de măsurare specificată pentru parametrii adiționali. Adeseori, acest lucru se poate realiza indicând cea mai bună capabilitate de măsurare ca o funcție de aceşti parametri.

A10 Cea mai bună capabilitate de măsurare trebuie de obicei să fie declarată in formă numerică. Atunci când cea mai bună capabilitate de măsurare este o funcție de mărimea la care se referă (sau de orice alt parametru), aceasta trebuie declarată în formă analitică iar, în cazul în care este ilustrativ, să se susțină declarația cu ajutorul unei diagrame. Trebuie să fie întotdeauna clar şi fără nici un echivoc dacă cea mai bună capabilitate de măsurare este dată în termeni absoluți sau relativi. (De obicei, includerea unității de măsură respective oferă explicația necesară dar, în cazul unor mărimi adimensionale, este necesară o declarație separată.)

A11 Deşi evaluarea trebuie să fie bazată pe procedurile din acest document, în corpul principal al textului, este formulată cerința ca evaluarea să fie în mod normal 'susținută sau confirmată de date experimentale'. Sensul acestei cerințe este că organismul de acreditare nu trebuie să se bazeze numai pe evaluarea incertitudinii de măsurare. Trebuie să fie efectuate comparații inter-laboratoare care să susțină evaluarea, sub supravegherea sau în numele organismului de acreditare.

ANEXA B

Glosar de termeni relevanți

B1 **media aritmetică** (ref. [3] termenul 2.26)
Suma valorilor raportată la numărul de valori

B2 **cea mai bună capabilitate de măsurare** (Capitolul 1)
Cea mai mică incertitudine de măsurare pe care o poate realiza laboratorul în cadrul domeniului său de acreditare, atunci când efectuează etalonări mai mult sau mai puțin de rutină ale unor etaloane aproape ideale destinate realizării, conservării sau reproducerii unității de măsură a mărimii respective sau a uneia sau mai multe valori ale acesteia, sau atunci când efectuează etalonări mai mult sau mai puțin de rutină ale unor instrumente de măsură aproape ideale destinate măsurării mărimii respective

B3 **corelație** (ref. [3] termenul 1.13)
Relația dintre două sau mai multe variabile aleatoare în cadrul unei distribuții de două sau mai multe variabile aleatoare

B4 **coeficient de corelație** (din ref. [1] Capitolul C.3.6)
Măsura dependenței mutuale relative a două variabile aleatoare, egală cu raportul dintre covariența lor şi rădăcina pătrată pozitivă a produsului variațelor lor

B5 **covarianță** (din ref. [1] Capitolul C.3.4)
Măsura dependenței mutuale a două variabile aleatoare, egală cu media statistică a produsului abaterilor a două variabile aleatoare rezultând din mediile statistice (valorile aşteptate) respective ale acestora.

B6 **factor de acoperire** (ref. [1] termenul 2.3.6)
Un factor numeric folosit ca înmulțitor pentru incertitudinea de măsurare standard pentru a obține incertitudinea de măsurare extinsă

B7 **probabilitate de acoperire** (din ref. [1] termenul 2.3.5, NOTA 1)
Fracțiunea, de obicei mare, a distribuției valorilor care, în urma unei măsurări, pot fi atribuite în mod rezonabil măsurandului

B8 **abatere standard experimentală** (ref. [2] termenul 3.8)
Rădăcina pătrată pozitivă a variației experimentale.

B9 **incertitudine extinsă** (ref. [1] termenul 2.3.5)
O mărime ce defineşte un interval în jurul rezultatului unei măsurări care se aşteaptă să cuprindă o mare parte a distribuției valorilor ce pot fi atribuite, în mod rezonabil măsurandului.

B10 **varianță experimentală** (din ref. [1] Capitolul 4.2.2)
Mărimea ce caracterizează dispersia rezultatului unei serii de *n* observații ale aceluiaşi măsurand dată de ecuația (3.2) din text.

B11 **estimație de intrare** (din ref. [1] Capitolul 4.1.4)
Estimația unei mărimi de intrare utilizate în evaluarea rezultatelor unei măsurări.

B12 **mărime de intrare** (din ref. [1] Capitolul 4.1.2)
O mărime de care depinde măsurandul, luată în considerare în cadrul procesului de evaluare a rezultatului unei măsurări.

B13 **măsurand** (ref. [2] termenul 2.6)
Mărimea particulară care face obiectul măsurării.

B14 **estimație de ieşire** (din ref. [1] Capitolul 4.1.4)
Rezultatul unei măsurări calculat pe baza estimațiilor de intrare cu ajutorul funcției de modelare.

B15 **mărime de ieşire** (din ref. [1] Capitolul 4.1.2)
Mărimea care reprezintă măsurandul în cadrul evaluării unei măsurări.

B16 **estimație globală[1] a variației** (din ref. [1] Capitolul 4.2.4)
O estimație a variației experimentale obținută dintr-un şir lung de observații ale aceluiaşi măsurand într-o măsurare bine caracterizată aflată sub control statistic.

B17 **distribuție de probabilitate** (ref. [3] termenul 1.3)
O funcție care indică probabilitatea ca o variabilă aleatoare să ia oricare dintre valorile date sau să aparțină unui set de valori dat

B18 **variabilă aleatoare** (ref. [3] termenul 1.2)
O variabilă care poate lua oricare dintre valorile unui set de valori specificat şi cu care este asociată o distribuție de probabilitate.

B19 **incertitudine de măsurare standard relativă** (din ref. [1] Capitolul 5.1.6**)**
Incertitudinea standard a unei mărimi raportată la estimația acelei mărimi.

B20 **coeficient de sensibilitate asociat unei estimații de intrare** (din ref. [1] Capitolul 5.1.3)
Modificarea diferențială a estimației de ieşire generată de o modificare diferențială a unei estimații de intrare raportată la modificarea acelei estimații de intrare.

B21 **abatere standard** (din ref. [3] termenul 1.23)
Rădăcina pătrată pozitivă a variației unei variabile aleatoare.

B22 **incertitudine de măsurare standard** (ref. [1] termenul 2.3.1)
Incertitudinea de măsurare exprimată ca abatere standard.

B23 **metoda de evaluare de Tip A** (ref. [1] termenul 2.3.2)
Metoda de evaluare a incertitudinii de măsurare prin analiza statistică a unor serii de observații

B24 **metoda de evaluare de Tip B** (ref. [1] termenul 2.3.3)
Metoda de evaluare a incertitudinii de măsurare prin alte mijloace decât prin analiza statistică a unor serii de observații.

B25 **incertitudinea de măsurare** (ref. [2] termenul 3.9)
Un parametru asociat rezultatului unei măsurări, care caracterizează dispersia valorilor ce pot fi atribuite în mod rezonabil măsurandului.

---

[1] În limba Engleză *pooled estimate of variance* (Nota trad.)

B26 **varianță** (din ref. [3] termenul 1.22)
Media statistică a pătratului abaterii unei variabile aleatoare în jurul valorii sale aşteptate.

ANEXA C

Surse de incertitudine de măsurare

C1 Incertitudinea rezultatului unei măsurări reflectă lipsa cunoaşterii complete a valorii măsurandului. Cunoaşterea completă necesită o cantitate infinită de informaţii. Fenomenele care contribuie la incertitudine şi, în acest fel, la faptul că rezultatul unei măsurări nu poate fi caracterizat printr-o valoare unică, se numesc surse de incertitudine. În practică, există multe surse posibile de incertitudine de măsurare [1], incluzând:

(a) definirea incompletă a măsurandului;

(b) realizarea imperfectă a definiţiei măsurandului;

(c) eşantionare ne-reprezentativă — eşantionul măsurat poate să nu reprezinte măsurandul definit;

(d) efecte ale condiţiilor de mediu pentru care există o cunoaştere inadecvată sau măsurarea imperfectă a acestora;

(e) influenţa personală la citirea instrumentelor analogice;

(f) rezoluţia finită a instrumentelor sau pragul de discriminare;

(g) valori inexacte ale etaloanelor şi materialelor de referinţă;

(h) valori inexacte ale constantelor şi altor parametri obţinute din surse externe şi folosite în algoritmul de conversie a datelor;

(i) aproximaţii şi presupuneri incorporate în metoda şi procedura de măsurare;

(j) variaţii în observaţiile repetate ale măsurandului în condiţii aparent identice.

C2 Aceste surse nu sunt în mod necesar independente. Unele dintre sursele de la (a) la (i) pot să contribuie la (j).

ANEXA D

Mărimi de intrare corelate

D1 Dacă despre două mărimi de intrare X_i şi X_k se ştie că sunt corelate într-un anumit grad — adică, acestea depind într-un fel sau altul una de alta — **covarianța** asociată celor două estimații x_i şi x_k

$$u(x_I,x_k) = u(x_i)u(x_k)r(x_i,x_k) \qquad (i \neq k) \tag{D.1}$$

trebuie să fie luată în considerare ca o contribuție suplimentară la incertitudine. Gradul de corelație este caracterizat de **coeficientul de corelație** $r(x_i,x_k)$ (unde $i \neq k$ şi $|r| \leq 1$).

D2 În cazul a n perechi de observații independente de observații repetate simultane a două mărimi P şi Q, covarianța asociată mediilor aritmetice $\bar{p}$ şi $\bar{q}$ este dată de

$$s(\bar{p},\bar{q}) = \frac{1}{n(n-1)}\sum_{j=1}^{n}(p_j - \bar{p})(q_j - \bar{q}) \tag{D.2}$$

şi, prin substituție, r poate fi calculat din ecuația (D.1).

D3 Pentru mărimile de influență orice grad de corelație trebuie să fie bazat pe experiență. Atunci când există corelație, ecuația (4.1) trebuie să fie înlocuită cu

$$u^2(y) = \sum_{i=1}^{N} c_i^2 u^2(x_i) + 2\sum_{i=1}^{N-1}\sum_{k=i+1}^{N} c_i c_k u(x_i, x_k) \tag{D.3}$$

unde c_i şi c_k sunt coeficienții de sensibilitate definiți de ecuația (4.3) sau

$$u^2(y) = \sum_{i=1}^{N} u^2(y) + 2\sum_{i=1}^{N-1}\sum_{k=i+1}^{N} u_i(y)u_k(y)r(x_i, x_k) \tag{D.4}$$

în care contribuțiile $u_i(y)$ la incertitudinea standard a estimației de ieşire y rezultă din incertitudinea standard a estimației de intrare x_i dată de ecuația (4.2). Trebuie remarcat faptul că a doua sumă de termeni din ecuațiile (D.3) sau (D.4) poate rezulta şi cu semn negativ.

D4 În practică, mărimile de intrare sunt adeseori corelate deoarece se folosesc pentru evaluarea valorii acestora acelaşi etalon de referință fizic, acelaşi instrument de măsură, aceeaşi valoare de referință sau chiar metodă de măsurare având o incertitudine semnificativă. Fără pierderea gradului de generalitate, să presupunem că două mărimi de intrare X_1 şi X_2 estimate prin x_1 şi x_2 depind de setul de variabile independente Q_l (l = 1,2,…,L)

$$x_1 = g_1(Q_1, Q_2, \ldots, Q_L)$$
$$x_2 = g_2(Q_1, Q_2, \ldots, Q_L) \qquad \text{(D.5)}$$

Deşi unele dintre aceste variabile s-ar putea să nu apară în mod necesar în ambele funcții. Estimațiile x_1 şi x_2 ale mărimilor de intrare vor fi corelate într-o anumită măsură, chiar dacă estimațiile q_l (l = 1,2,…,L) sunt necorelate. În acel caz, covarianța $u(x_1,x_2)$ asociată cu estimațiile x_1 şi x_2 este dată de

$$u(x_1, x_2) = \sum_{l=1}^{L} c_{1l} c_{2l} u^2(q_l) \qquad \text{(D.6)}$$

unde c_{1l} şi c_{2l} sunt coeficienții de sensibilitate derivați din funcțiile g_1 şi g_2 prin analogie cu ecuația (4.3). Deoarece numai acei termeni contribuie la suma pentru care coeficienții de sensibilitate nu se anulează, covarianța este zero dacă funcțiile g_1 şi g_{12} nu au nici o variabilă în comun. Coeficientul de corelație $r(x_1,x_2)$ asociat cu estimațiile x_1 şi x_2 se determină din ecuația (D.6) împreună cu ecuația (D.1).

D5 Următorul exemplu demonstrează corelațiile care există între valorile atribuite la două etaloane materiale care sunt etalonate față de acelaşi etalon de referință.

Problemă de Măsurare

Cele două etaloane X_1 şi X_2 se compară cu etalonul de referință Q_S prin intermediul unui sistem de măsurare capabil să determine diferența z dintre valorile lor cu o incertitudine standard asociată $u(z)$. Valoarea q_S a etalonului de referință este cunoscută cu o incertitudine standard $u(q_S)$.

Model Matematic

Estimațiile x_1 şi x_2 depind de valoarea q_S a etalonului de referință şi de diferențele observate z_1 şi z_2 conform relațiilor

$$x_1 = q_S - z_1$$
$$x_2 = q_S - z_2 \qquad \text{(D.7)}$$

Incertitudini standard şi covariațe

Estimațiile z_1, z_2 şi q_S se presupune că sunt necorelate deoarece au fost determinate în măsurări diferite. Incertitudinile standard se calculează din ecuația (4.4) iar covarianța asociată estimațiilor x_1 şi x_2 se calculează din ecuația (D.6), presupunând că $u(z_1) = u(z_2) = u(z)$,

$$u^2(x_1) = u^2(q_S) + u^2(z)$$
$$u^2(x_2) = u^2(q_S) + u^2(z) \qquad \text{(D.8)}$$
$$u^2(x_1,x_2) = u^2(q_S)$$

Coeficientul de corelație dedus din aceste rezultate este

$$r(x_1, x_2) = \frac{u^2(q_S)}{u^2(q_S) + u^2(z)} \qquad \text{(D.9)}$$

Valorile acestuia se situează între 0 şi +1, depinzând de raportul incertitudinilor standard $u(q_S)$ and $u(z)$.

D6 Cazul descris de ecuația (D.5) reprezintă una din situațiile în care includerea corelației în evaluarea incertitudinii standard a măsurandului poate fi evitată printr-o alegere corespunzătoare a funcției de modelare. Introducând direct variabilele independente Q_l, prin înlocuirea variabilelor originale X_1 şi X_2 în funcția de modelare f, în conformitate cu ecuațiile de transformare (D.5), se obține o nouă funcție de modelare care nu mai conține variabilele corelate X_1 şi X_2.

D7 Există totuşi cazuri în care corelația dintre două mărimi de intrare X_1 şi X_2 nu poate fi evitată, cum ar fi atunci când se utilizează acelaşi instrument sau acelaşi etalon de referință pentru determinarea estimațiilor de intrare x_1 şi x_2 dar nu este posibilă folosirea unor ecuații de transformare cu noi variabile independente. Dacă, mai mult, gradul de corelare nu este pe deplin cunoscut, ar putea fi util să se evalueze influența maximă pe care aceasta corelație o poate avea printr-o estimație limitată superior a incertitudinii standard a măsurandului, care, atunci când nu trebuie să se ia în considerare alte corelații, este de forma

$$u^2(y) \le \left(|u_1(y)| + |u_2(y)|\right)^2 + u_r^2(y) \qquad \text{(D.10)}$$

unde $u_r(y)$ este contribuția la incertitudinea standard a tuturor celorlalte mărimi de intrare presupuse a fi necorelate.

Notă: Ecuația (D.10) poate fi uşor generalizată la cazul unuia sau mai multor grupuri cu două sau mai multe mărimi de intrare corelate. În acest caz, trebuie introdusă în ecuația (D.10) suma reprezentând situația cea mai defavorabilă pentru fiecare grup de mărimi corelate

ANEXA E

Factori de acoperire derivați din gradele efective de libertate.

E1 Pentru a estima valoarea factorului de acoperire *k* ce corespunde unei anumite probabilități de acoperire este necesar să se ia în considerare gradul de încredere în incertitudinea standard *u*(*y*) a estimației de ieşire. Aceasta înseamnă să se ia în considerare cât de bine estimează *u*(*y*) abaterea standard asociată rezultatului unei măsurări. Pentru o estimație a abaterii standard a unei distribuții normale, numărul de grade de libertate ale acestei estimații, care depinde de mărimea eşantionului pe care se bazează, este o măsură a încrederii. În mod similar, o măsură adecvată a încrederii ce poate fi atribuită incertitudinii standard asociată unei estimații de ieşire este numărul său efectiv de grade de libertate ν_{ef}, care poate fi aproximat printr-o combinație adecvată a numărului efectiv de grade de libertate ale diferitelor sale contribuții la incertitudine $u_i(y)$.

E2 Procedura pentru calculul unui factor de acoperire adecvat *k*, atunci când sunt îndeplinite condițiile de aplicare ale Teoremei Limitei Centrale, cuprinde următorii trei paşi:

(a) Se obține incertitudinea standard asociată estimației de ieşire în conformitate cu procedura pas cu pas descrisă în Capitolul 7.

(b) Se estimează numărul efectiv de grade de libertate ν_{ef} al incertitudinii standard *u*(*y*) asociată estimației de ieşire *y* din formula Welch-Satterthwaite

$$\nu_{ef} = \frac{u^4(y)}{\sum_{i=1}^{N} \frac{u_i^4(y)}{\nu_i}} \qquad \text{(E.1)}$$

unde $u_i(y)$ (i=1,2,…,N), definit de ecuația (4.2), reprezintă contribuțiile la incertitudinea standard asociată estimației de ieşire *y* rezultând din incertitudinea standard asociată estimației de intrare x_I, care sunt presupuse a fi statistic mutual independente, iar ν_i este numărul de grade efective de libertate al contribuției la incertitudinea standard $u_i(y)$.

Pentru o incertitudine standard *u*(*q*) obținută dintr-o evaluare de Tip A, după cum s-a discutat în sub-capitolul 3.1, numărul gradelor de libertate este dat de $\nu_i = n - 1$. Asocierea unui număr de grade de libertate unei incertitudini standard $u(x_i)$ obținută dintr-o evaluare de Tip B este mai problematică. Totuşi, intră în practica curentă să se efectueze astfel de evaluări într-o manieră care să asigure că este evitată orice subestimare. Dacă, de exemplu, sunt stabilite limitele inferioară şi superioară a_- şi a_+, acestea sunt de obicei alese în aşa fel încât probabilitatea ca mărimea respectivă să aibă valori în afara acestor limite să fie în realmente extrem de mică. În baza presupunerii că această practică se respectă, numărul gradelor de libertate ale

incertitudinii standard $u(x_i)$ obținută dintr-o evaluare de Tip B se poate considera a fi $\nu_i \rightarrow \infty$.

(c) Se obține factorul de acoperire k din tabelul de valori dat ca Tabelul E.1 din această anexă. Acest tabel se bazează pe o distribuție t evaluată pentru o probabilitate de acoperire de 95,45%. Dacă ν_{ef} nu este un număr întreg, aşa cum este de obicei cazul, se trunchiază ν_{ef} la valoarea întreagă imediat inferioară.

Tabelul E.1: Factori de acoperire k pentru diferite grade efective de libertate ν_{ef}.

ν_{ef}	1	2	3	4	5	6	7	8	10	20	50	∞
k	13,97	4,53	3,31	2,87	2,65	2,52	2,43	2,37	2,28	2,13	2,05	2,00

SUPLIMENTUL 1

Exemple

CUPRINS

S1	INTRODUCERE	31
S2	ETALONAREA UNEI GREUTĂȚI CU VALOAREA NOMINALĂ DE 10 kg	32
S3	ETALONAREA UNUI REZISTOR ETALON CU VALOAREA NOMINALĂ DE 10 kΩ	34
S4	ETALONAREA UNEI CALE CU LUNGIMEA NOMINALĂ DE 50 mm	37
S5	ETALONAREA UNUI TERMOCUPLU DE TIP N LA 1000ºC	41
S6	ETALONAREA UNUI CAP DE MĂSURĂ A PUTERII LA FRECVENȚA DE 19 GHz	46
S7	ETALONAREA UNUI ATENUATOR COAXIAL ÎN TREPTE LA O VALOARE DE 30 dB (ATENUARE PROGRESIVĂ)	51

S1 INTRODUCERE

S1.1 Exemplele următoare sunt alese pentru a demonstra metoda de evaluarea a incertitudinii de măsurare. Mai multe exemple tipice şi reprezentative având la bază modele adecvate trebuie să fie elaborate de grupuri de lucru specializate din diverse domenii. Totuşi, exemplele prezentate aici oferă o orientare generală asupra modului în care trebuie să se procedeze.

S1.2 Exemplele se bazează pe proiectele elaborate de Grupurile de Experți ai EAL. Aceste proiecte au fost simplificate şi armonizate pentru a le face mai uşor de înțeles de către personalul laboratoarelor de etalonare din toate domeniile. Se speră astfel că acest set de exemple va contribui la o mai bună înțelegere a detaliilor privind alegerea modelului de evaluare şi la armonizarea procesului de evaluare a incertitudinii de măsurare, indiferent de domeniul în care se efectuează etalonarea.

S1.3 Contribuțiile şi valorile date în exemple nu trebuie interpretate ca fiind cerințe obligatorii sau preferate. Laboratoarele trebuie să determine contribuțiile la incertitudinea de măsurare pe baza funcției de modelare (modelului funcțional) aplicată de acestea pentru evaluarea etalonării specifice pe care o efectuează şi să declare incertitudinea de măsurare evaluată în certificatul de etalonare pe care îl emit. În toate exemplele date, condițiile enunțate în capitolul 5 pentru utilizarea factorului de acoperire $k = 2$ sunt îndeplinite.

S1.4 În prezentarea exemplelor se urmăreşte procedura pas cu pas din capitolul 7 al EAL R-2, schema comună conținând:

- un titlu concis, descriptiv,
- o descriere generală a procesului de măsurare,
- modelul evaluării cu o listă a simbolurilor folosite,
- o listă extinsă cu datele de intrare, cu o scurtă descriere a modului în care au fost obținute,
- lista observărilor efectuate şi evaluarea parametrilor statistici,
- un buget de incertitudine sub forma unui tabel,
- incertitudinea de măsurare extinsă,
- raportarea rezultatul complet al măsurării.

S1.5 Se intenționează ca acest prim supliment la EAL-R2 să fie urmat de altele conținând şi alte exemple rezolvate de evaluare a incertitudinii de măsurare legate de etalonarea instrumentelor. Exemple pot fi de asemenea găsite în Ghidurile EAL care se referă la etalonarea unor anumite tipuri instrumente de măsură.

S2 ETALONAREA UNEI GREUTĂȚI CU VALOAREA NOMINALĂ DE 10 KG

S2.1 Se efectuează etalonarea unei greutăți de clasă OIML M1 cu valoarea nominală de 10 kg prin comparare cu un etalon de referință (de clasă OIML F2), cu aceeaşi valoare nominală, utilizând un comparator de mase ale cărui caracteristici de funcționare au fost determinate anterior.

S2.2 Masa convențională necunoscută m_x se obține din:

$$m_X = m_S + \delta d_D + \delta m + \delta m_C + \delta B \qquad \text{(S2.1)}$$

unde:

m_S - masa convențională a etalonului,

δm_D - deriva valorii etalonului în perioada de la etalonarea precedentă,

δm - diferența de masă observată între masa necunoscută şi cea a etalonului,

δm_C - corecția de excentricitate şi pentru efectele magnetice,

δB - corecția cu forța ascensională.

S2.3 Etalonul de referință (m_S): Certificatul de etalonare al etalonului de referință indică o valoare de 10 000,005 g cu o incertitudine extinsă asociată de 45 mg (factor de acoperire $k = 2$).

S2.4 Deriva valorii etalonului (δm_D): Deriva valorii etalonului de referință de la ultima etalonare este estimată a fi zero în limita a ±15 mg.

S2.5 Comparatorul (δm, δm_C): O evaluare precedentă a repetabilității diferenței de masă dintre cele două greutăți de aceeaşi valoare nominală a condus la o estimație globală a abaterii standard de 25 mg. Nu se aplică nici o corecție comparatorului, în timp ce variațiile datorate excentricității şi efectelor magnetice se estimează a avea limite rectangulare de ±10 mg.

S2.6 Forța ascensională (δB): Nu se aplică nici o corecție pentru forța ascensională, limitele de abatere fiind estimate a fi $\pm 1 \times 10^{-6}$ din valoarea nominală.

S2.7 Corelația: Nici una dintre mărimile de intrare nu se consideră a fi corelată într-o măsură semnificativă.

S2.8 Măsurările: S-au obținut trei observări ale diferenței de masă între masa necunoscută şi etalon utilizându-se metoda substituției şi schema de substituție ABBA ABBA ABBA:

Nr.	Masa convențională		Citire		Diferența observată
	etalon		+0,010 g		
	masa necunoscută		+0,020 g		
	masa necunoscută		+0,025 g		
	etalon		+0,015 g		+0,01 g
2	etalon		+0,025 g		
	masa necunoscută		+0,050 g		
	masa necunoscută		+0,055 g		
	etalon		+0,020 g		+0,03 g
3	etalon		+0,025 g		
	masa necunoscută		+0,045 g		
	masa necunoscută		+0,040 g		
	etalon		+0,020 g		+0,02 g

media aritmetică: $\overline{\delta m} = 0{,}020$ g

estimația globală a abaterii standard: $s_p(\delta m) = 25$ mg
(obținută dintr-o evaluare anterioară)

incertitudinea standard: $u(\delta m) = s(\overline{\delta m}) = \dfrac{25\ mg}{\sqrt{3}} = 14{,}4\ mg$

S2.9 Bugetul de incertitudine (m_X):

Mărimea X_i	Estimația x_i	Incertitudinea standard $u(x_i)$	Distribuția de probabilitate	Coeficientul de sensibilitate c_i	Contribuția la incertitudine $u_i(y)$
m_S	10 000,005 g	22,5 mg	normală	1,0	22,5 mg
δm_D	0,000 g	8,95 mg	rectangulară	1,0	8,95 mg
δm	0,020 g	14,4 mg	normală	1,0	14,4 mg
δm_C	0,000 g	5,77 mg	rectangulară	1,0	5,77 mg
δB	0,000 g	5,77 mg	rectangulară	1,0	5,77 mg
m_X	10 000,025 g				29,3 mg

S2.10 Incertitudinea extinsă

$U = k \times u(m_X) = 2 \times 29{,}3 \text{ mg} \cong 59 \text{ mg}$

S2.11 Raportarea rezultatelor

Masa măsurată a greutății care are valoarea nominală de 10 kg este 10,000 025 kg ± 59 mg. Incertitudinea de măsurare extinsă declarată este dată ca incertitudine de măsurare standard multiplicată cu factorul de acoperire $k = 2$, care, în cazul unei distribuții normale, corespunde unei probabilități de acoperire de aproximativ 95 %.

S3 ETALONAREA UNUI REZISTOR ETALON CU O VALOARE NOMINALĂ DE 10 KΩ

S3.1 Rezistența unui rezistor etalon cu patru borne se determină prin substituție directă, utilizând un multimetru digital cu domeniu extins (DMM cu 7½ cifre), în modul măsurare rezistență, şi un rezistor etalon cu patru borne etalonat, cu aceeaşi valoare nominală ca şi cel care este supus etalonării, având rolul de etalon de referință. Rezistoarele sunt în imersie într-o baie de ulei bine omogenizată, operând la temperatura de 23 ºC, monitorizată cu ajutorul unui termometru de sticlă cu mercur plasat central. Se lasă rezistoarele să se stabilizeze înainte de măsurare. Cele patru borne ale fiecărui rezistor sunt conectate pe rând la bornele DMM. S-a stabilit că un curent de măsurare de 100 µA pe domeniul de 10 kΩ al DMM este suficient de mic pentru a nu produce nici o auto-încălzire semnificativă a rezistoarelor. Procedura de măsurare utilizată asigură de asemenea că efectele rezistențelor de scurgere externe asupra rezultatului măsurării poate fi considerată a fi nesemnificativă.

S3.2 Rezistența R_X a rezistorului necunoscut se obține din relația:

$$R_X = (R_S + \delta R_D + \delta R_{TS}) r_C r - \delta R_{TX} \qquad \text{(S3.1)}$$

unde:

R_S	-	rezistența etalonului de referință,
δR_D	-	deriva în timp a rezistenței etalonului de referință de la ultima etalonare,
δR_{TS}	-	variația cu temperatura a rezistenței etalonului de referință,
$r = R_{iX}/R_{iS}$	-	raportul dintre rezistențele indicate (indicele i înseamnă 'indicat') pentru rezistorul necunoscut şi pentru rezistorul de referință,
r_C	-	*factor de corecție pentru tensiunile parazite şi rezoluția instrumentului*
δR_{TX}	-	variația cu temperatura a rezistenței rezistorului necunoscut.

S3.3 Etalonul de referință (R_S): Certificatul de etalonare al etalonului de referință indică o valoare a rezistenței de 10 000,053 Ω ± 5 mΩ (factor de acoperire $k = 2$) la temperatura de referință specificată de 23 °C.

S3.4 Deriva în timp a valorii etalonului (δR_D): Deriva în timp a rezistenței etalonului de referință de la ultima etalonare este estimată pe baza istoricului etalonărilor sale ca fiind +20 mΩ cu abateri ce nu depăşesc ±10 mΩ.

S3.5 Corecții cu temperatura (δR_{TS}, δR_{TX}): Temperatura băii de ulei este monitorizată cu ajutorul unui termometru etalonat pentru a fi 23,00 ºC. Luând în considerare caracteristicile metrologice ale termometrului utilizat şi gradientele de temperatură din baia de ulei, se estimează că temperatura rezistoarelor coincide cu temperatura monitorizată în limitele de ±0,055 K. Astfel, valoarea cunoscută 5×10^{-6} K^{-1} a coeficientului de temperatură (TC) a rezistorului de referință dă limitele de ±2,75 mΩ pentru abaterile de la valoarea rezistenței conform etalonării, datorită unor abateri posibile ale temperaturii de lucru. Din documentația fabricantului, TC-ul rezistorului necunoscut se estimează că nu depăşeşte 10×10^{-6} K^{-1}, astfel că variația rezistenței rezistorului necunoscut se estimează a fi în limitele de ±5,5 mΩ.

S3.6 Măsurările rezistenței (r_C): Cum acelaşi DMM este folosit pentru a observa atât R_{iX} cât şi R_{iS}, contribuțiile la incertitudine sunt corelate, dar efectul este de a reduce incertitudinea şi este necesar numai să se considere diferența relativă dintre valorile indicate ale rezistențelor datorate efectelor sistematice cum ar fi tensiunile parazite şi rezoluția instrumentului (a se vedea nota matematică de la paragraful S3.12), care se estimează că au limitele de $\pm0{,}5\times10^{-6}$ pentru fiecare valoare indicată. Distribuția rezultantă pentru raportul r_C este triunghiulară cu valoarea aşteptată 1,000 000 0 şi limitele de $\pm1{,}0\times10^{-6}$.

S3.7 Corelația: Nici una dintre mărimile de intrare nu se consideră a fi corelată într-o măsură semnificativă.

S3.8 Măsurările (r): Pentru înregistrarea raportului r, s-au efectuat cinci observări:

Nr.	Raportul observat
1	1,000 010 4
2	1,000 010 7
3	1,000 010 6
4	1,000 010 3
5	1,000 010 5

media aritmetică: $\bar{r} = 1\ 000\ 010\ 5,$

abaterea standard experimentală: $s(r) = 0{,}158\times10^{-6}$

incertitudinea standard: $$u(r) = s(\bar{r}) = \frac{0{,}158\times10^{-6}}{\sqrt{5}} = 0{,}0707\times10^{-6}$$

S3.9 Bugetul de incertitudine (R_X):

Mărimea X_i	Estimația x_i	Incertitudinea standard $u(x_i)$	Distribuția de probabilitate	Coeficientul de sensibilitate c_i	Contribuția la incertitudine $u_i(y)$
R_S	10 000,053 Ω	2,5 mΩ	normal	1,0	2,5 mΩ
δR_D	0,020 Ω	5,8 mΩ	rectangulară	1,0	5,8 mΩ
δR_{TS}	0,000 Ω	1,6 mΩ	rectangulară	1,0	1,6 mΩ
δR_{TX}	0,000 Ω	3,2 mΩ	rectangulară	1,0	3,2 mΩ
r_C	1,000 000 0	$0{,}41\times10^{-6}$	triunghiulară	10 000 Ω	4,1 mΩ
r	1,000 010 5	$0{,}07\times10^{-6}$	normală	10 000 Ω	0,7 mΩ
R_X	10 000,178 Ω				8,33 mΩ

S3.10 Incertitudinea extinsă:

$U = k \times u(R_X) = 2 \times 8{,}33\ \text{m}\Omega \cong 17\ \text{m}\Omega$

S3.11 Raportarea rezultatului: Valoarea măsurată a rezistorului cu valoarea nominală de 10 kΩ, la o temperatură de măsurare de 23,00 ºC şi un curent de măsurare de 100 µA, este

(10 000,178 ± 0,017) Ω.

Incertitudinea de măsurare extinsă declarată este dată ca incertitudine de măsurare standard multiplicată cu factorul de acoperire $k = 2$, care, în cazul unei distribuții normale, corespunde unei probabilități de acoperire de aproximativ 95 %.

S3.12 Notă matematică referitoare la incertitudinea de măsurare a raportului valorilor de rezistență indicate: Rezistorul necunoscut şi cel de referință au aproape aceeaşi rezistență . În limitele aproximației liniare obişnuite a abaterilor, valorile care determină indicațiile DMM R_{iX} şi R_{iS} sunt date de

$$R_X' = R_{iX}\left(1 + \frac{\delta R_X'}{R}\right)$$
$$R_S' = R_{iS}\left(1 + \frac{\delta R_S'}{R}\right) \qquad \text{(S3.2)}$$

în care R este valoarea nominală a rezistoarelor iar $\delta R_X'$ şi $\delta R_S'$ abaterile necunoscute. Raportul între rezistențe dedus din aceste expresii este

$$\frac{R_X'}{R_S'} = rr_C \qquad \text{(S3.3)}$$

cu raportul dintre indicațiile de rezistențe pentru rezistorul necunoscut şi cel de referință

$$r = \frac{R_{iX}}{R_{iS}} \qquad \text{(S3.4)}$$

iar factorul de corecție (aproximația lineară a abaterilor)

$$r_C = 1 + \frac{\delta R_X' - \delta R_S'}{R} \qquad \text{(S3.5)}$$

Datorită faptului că diferența dintre abateri intră în ecuația (S3.5), contribuțiile corelate ale efectelor sistematice cauzate de scara internă a DMM nu influențează rezultatul. Incertitudinea standard a factorului de corecție este determinată numai de abateri necorelate cauzate de efecte parazite şi de rezoluția DMM. Presupunând că $u(\delta R_X') = u(\delta R_S') = u(\delta R')$ aceasta este dată de expresia

$$u^2(r_C) = 2\frac{u^2(\delta R')}{R^2} \qquad \text{(S3.6)}$$

S4 ETALONAREA UNEI CALE CU LUNGIMEA NOMINALĂ DE 50 mm

S4.1 Etalonarea calei de clasă 0 (ISO 3650) cu lungimea nominală de 50 mm se efectuează prin comparație utilizând un comparator şi o cală etalonată de aceeaşi lungime şi acelaşi material ca etalon de referință. Diferența de lungime centrală este determinată cu cele două cale în poziție verticală cu ajutorul a două palpatoare care vin în contact cu suprafețele de măsurare superioară şi inferioară. Relația dintre lungimea reală l_X' a calei de etalonat şi lungimea reală l_S' a etalonului de referință este dată de ecuația

$$l_X' = l_S' + \delta l \qquad \text{(S4.1)}$$

unde δl este diferența de lungime măsurată. l_X' şi l_S' sunt lungimile calelor în condițiile măsurării, în particular la o temperatură care, pe baza incertitudinii măsurării temperaturii din laborator, ar putea să nu fie identică cu temperatura de referință pentru măsurări de lungime.

S4.2 Lungimea l_X a calei necunoscute la temperatura de referință se obține din relația:

$$l_X = l_S + \delta l_D + \delta l + \delta l_C - L(\bar{\alpha} \times \delta t + \delta\alpha \times \delta \bar{t}) - \delta l_V \qquad \text{(S4.2)}$$

unde:

l_S - lungimea calei de referință la temperatura de referință t_0 = 20 ºC conform certificatului de etalonare ale acesteia;

δl_D - variația lungimii calei de referință față de ultima etalonare datorată derivei în timp;

δl	-	diferența de lungime observată dintre cala necunoscută şi cala de referință;
δl_C	-	corecția pentru neliniaritatea şi offset-ul comparatorului;
L	-	lungimea nominală a calelor considerate;
$\bar{\alpha} = (\alpha_X + \alpha_S) / 2$	-	media coeficienților de dilatare termică ale calei necunoscute şi calei de referință;
$\delta t = (t_X - t_S)$	-	diferența de temperatură dintre cala necunoscută şi cala de referință;
$\delta\alpha = (\alpha_X - \alpha_S)$	-	diferența dintre coeficienții de dilatare termică ai calei necunoscute şi calei de referință;
$\Delta\bar{t} = (t_X + t_S)/2 - t_0$	-	abaterea temperaturii medii a calei necunoscute şi a calei de referință față de temperatura de referință;
δl_V	-	corecția pentru excentricitatea contactului pe fețele de măsurare ale calei necunoscute.

S4.3 Etalonul de referință (l_S): Lungimea calei de referință împreună cu incertitudinea de măsurare extinsă este dată în certificatul de etalonare al unui set de cale ca fiind 50,000 02 mm ± 30 nm (factor de acoperire $k = 2$).

S4.4 Deriva în timp a etalonului (δl_D): Deriva în timp a lungimii calei de referință este estimată pe baza etalonărilor anterioare a fi zero în limitele de ±30 nm. Experiența generală cu cale de acest tip indică faptul că deriva zero este cea mai probabilă şi că se poate presupune o distribuție de probabilitate triunghiulară.

S4.5 Comparatorul (δl_C): Comparatorul trebuie verificat pentru în ce priveşte conformitatea cu specificațiile din EAL-G21. Pe această bază, se poate considera că pentru diferențe de lungime D de până la ±10 µm, corecțiile pentru diferențele de lungime indicate sunt în limitele de $\pm(30\text{ nm} + 0{,}02|D|)$. Luând în considerare toleranțele pentru calele de clasă 0 ce sunt supuse etalonării şi pentru cele de referință de clasă K, diferența de lungime maximă va fi în limitele de ±1 µm, conducând la limite de ±32 nm pentru corecțiile de neliniaritate şi offset ale comparatorului utilizat.

S4.6 Corecțiile de temperatură ($\bar{\alpha}$, δt, $\delta\alpha$, $\Delta\bar{t}$) Înainte de etalonare, trebuie să se asigure că s-a realizat aclimatizarea calelor la temperatura încăperii în care se efectuează măsurarea. Diferența de temperatură remanentă între cala etalon şi cea de etalonat se estimează a fi în limitele de ±0,05 K. Pe baza certificatului de etalonare al calei de referință şi a datelor furnizate de fabricant pentru cala ce urmează a fi etalonată, coeficientul de dilatare liniară al calei din oțel se consideră a fi în intervalul $(11{,}5 \pm 1{,}0)\pm 10^{-6}\ ºC^{-1}$. Combinând cele două distribuții rectangulare, diferențele coeficienților de dilatare liniară au o distribuție triunghiulară în limitele de $\pm 2\times 10^{-6}\ ºC^{-1}$. Abaterile temperaturii medii de măsurare de la temperatura de referință $t_0 = 20$ ºC se estimează a fi în limitele de ±5 ºC. Cele mai bune estimații

pentru diferențele coeficienților de dilatare lineară şi abaterile temperaturii medii de la temperatura de referință sunt zero. Ca urmare, în evaluarea contribuțiilor lor la incertitudine trebuie să se ia în considerare termeni de ordinul doi, ceea ce conduce la produsul incertitudinilor standard asociate cu factorii din produsul $\delta\alpha \times \Delta\bar{t}$ din ecuația (S4.2). (a se vedea nota matematică în paragraful S4.13, ec. (S4.5)). Incertitudinea standard finală este $u(\delta\alpha \times \Delta\bar{t}) = 0{,}236\times10^{-6}$.

S4.7 Variația lungimii (δl_V): Pentru cale de clasă 0 variația lungimii determinată din măsurarea lungimii la centru şi la cele patru colțuri trebuie să fie în limitele de ±0,12 µm (ISO 3650). Presupunând că această variație apare pe fețele de măsurare în lungul muchiei scurte cu lungimea de 9 mm şi că lungimea centrală este măsurată în interiorul unui cerc cu raza de 0,5 mm, corecțiile datorate nealinierii la centru a punctului de contact se estimează a fi în limitele de ±6,7 nm.

S4.8 Corelația: Nici una dintre mărimile de intrare nu se consideră a fi corelată într-o măsură semnificativă.

S4.9 Măsurările (δl): Pentru diferențele dintre cala necunoscută şi etalonul de referință s-au efectuat următoarele observări, comparatorul fiind resetat înainte de fiecare citire, folosind etalonul de referință.

Obs. nr.	Valoare obs.
1	-100 nm
2	-90 nm
3	-80 nm
4	-90 nm
5	-100 nm

media aritmetică: δl = -94 nm

estimația globală a abaterii standard: $s_p(\delta l)$ = 12 nm
(obținută dintr-o evaluare anterioară)

incertitudinea standard: $u(\delta l) = s(\overline{\delta l}) = \frac{12nm}{\sqrt{5}} = 5{,}37$ nm

Estimația globală a abaterii standard a fost luată din testul de verificare a conformității comparatorului cu cerințele EAL-G21.

S4.10 Bugetul de incertitudine (δl_X):

Mărimea X_i	Estimația x_i	Incertitudinea standard $u(x_i)$	Distribuția de probabilitate	Coeficientul de sensibilitate c_i	Contribuția la incertitudine $u_i(y)$
l_S	50,000 020 mm	15 nm	normală	1,0	15,0 nm
δl_D	0 mm	17,3 nm	triunghiulară	1,0	17,3 nm
δl	-0,000 094 mm	5,37 nm	normală	1,0	5,37 nm
δl_C	0 mm	18,5 nm	rectangulară	1,0	18,5 nm
δt	0 ºC	0,0289 ºC	rectangulară	-575 nmºC^{-1}	-16,6 nm
$\delta\alpha \times \Delta\bar{t}$	0	0,236×10^{-6}	specială	50 mm	-11,8 nm
δl_V	0 mm	3,87 nm	rectangulară	-1,0	-3,87 nm
l_X	49,999 926 mm				36,4 nm

S3.10 Incertitudinea extinsă:

$U = k \times u(l_X) = 2 \times 36{,}4 \text{ nm} \cong 73 \text{ nm}$

S4.12 Raportarea rezultatului

Valoarea măsurată a calei cu lungimea nominală de 50 mm este 49,999 926 mm ± 73 nm.

Incertitudinea de măsurare extinsă declarată este dată ca incertitudine de măsurare standard multiplicată cu factorul de acoperire $k = 2$, care, în cazul unei distribuții normale, corespunde unei probabilități de acoperire de aproximativ 95 %.

S4.13 Notă matematică asupra incertitudinii de măsurare standard a produsului a două mărimi cu media statistică zero: Dacă se consideră produsul a două mărimi, metoda uzuală de evaluare a contribuțiilor la incertitudine, bazată pe linearizarea funcției de modelare, trebuie să fie modificată în cazul în care una sau ambele medii statistice ale factorilor produsului sunt zero. Dacă factorii produsului sunt statistic independenți, cu medii statistice diferite de zero, pătratul incertitudinii de măsurare standard relative (varianța relativă) asociată produsului poate fi exprimată fără nici o linearizare prin pătratele incertitudinilor standard relative asociate estimațiilor factorilor:

$$w^2(x_1 + x_2) = w^2(x_1) + w^2(x_2) + w^2(x_1) \times w^2(x_2) \quad \text{(S4.2)}$$

Folosind definiția incertitudinii de măsurare standard relative această expresie se transformă uşor într-o relație generală

$$u^2(x_1 + x_2) = x_2^2\, u^2(x_1) + x_1^2\, u^2(x_2) + u^2(x_1) \times u^2(x_2) \quad \text{(S4.3)}$$

Dacă incertitudinile standard $u(x_1)$ şi $u(x_2)$ asociate mediilor statistice x_1 şi x_2 sunt mult mai mici decât modulele mediilor statistice respective, atunci al treilea termen din partea dreaptă poate fi neglijat. Ecuația care rezultă reprezintă cazul descris de metoda uzuală bazată pe linearizarea funcției de modelare.

Dacă, totuşi, unul dintre modulele valorilor mediei statistice, de exemplu, $|x_2|$, este mult mai mic decât incertitudinea standard $u(x_2)$ asociată acestei medii statistice sau chiar zero, termenul produs care conține această medie statistică din partea dreaptă a ecuației (S4.3) poate fi neglijat, dar al treilea termen nu. Ecuația care rezultă este

$$u^2(x_1 + x_2) \cong x_1^2\, u^2(x_2) + u^2(x_1) \times u^2(x_2) \quad \text{(S4.4)}$$

Dacă ambele module ale valorilor mediilor statistice sunt mult mai mici decât incertitudinile standard asociate lor sau chiar zero, numai al treilea termen din ecuația (S4.3) aduce o contribuție semnificativă:

$$u^2(x_1 + x_2) \cong u^2(x_1) \times u^2(x_2) \quad \text{(S4.5)}$$

S5 ETALONAREA UNUI TERMOCUPLU DE TIP LA 1000 ºC

S5.1 Se etalonează un termocuplu de tip N prin comparare cu două termocupluri de referință de tip R într-un cuptor orizontal la temperatura de 1000 ºC. Tensiunile electromotoare generate de termocupluri sunt măsurate cu ajutorul unui voltmetru digital printr-un comutator selector / inversor. Toate termocuplurile au joncțiunile de referință la 0 ºC.

Termocuplul care trebuie etalonat este conectat la punctul de referință prin intermediul unor cabluri de compensare. Valorile de temperatură sunt date conform scării de temperatură t_{90}.

S5.2 Temperatura t_X a joncțiunii calde a termocuplului ce trebuie etalonat este

$$\begin{aligned} t_X &= t_S\left(V_{iS} + \delta V_{iS1} + \delta V_{iS2} + \delta V_R - \frac{\delta t_{0S}}{C_{S0}}\right) + \delta t_D + \delta t_F \\ &\cong t_S(V_{iS}) + C_S \times \delta V_{iS1} + C_S \times \delta V_{iS2} + C_S \times \delta V_R - \frac{C_S}{C_{S0}}\delta t_{0S} + \delta t_D + \delta t_F \end{aligned} \quad \text{(S5.1)}$$

S5.3 Tensiunea V_X la bornele termocuplului cu joncțiunea rece la 0 ºC în timpul etalonării este

$$\begin{aligned} V_X(t) &\cong V_X(t_X) + \frac{\Delta t}{C_X} - \frac{\delta t_{0X}}{C_{X0}} \\ &= V_{iX} + \delta V_{iX1} + \delta V_{iX2} + \delta V_R + \delta V_{LX} + \frac{\Delta t}{C_X} - \frac{\delta t_{0X}}{C_{X0}} \end{aligned} \quad \text{(S5.2)}$$

unde:

$t_S(V)$	-	temperatura termometrului de referință în unități de tensiune cu joncțiunea rece la 0 ºC. Funcția este dată de certificatul de etalonare;
V_{iS}, V_{iX}	-	indicația voltmetrului;
δV_{iS1}, δV_{iX1}	-	corecțiile de tensiune obținute de la etalonarea voltmetrului;
δV_{iS2}, δV_{iX2}	-	corecțiile de tensiune datorită rezoluției limitate a voltmetrului;
δV_R	-	corecția de tensiune datorită efectelor de contact ale comutatorului inversor;
δt_{0S}, δt_{0X}	-	corecțiile de temperatură datorită abaterii temperaturii de referință de la 0 ºC;
C_S, C_X	-	sensibilitățile termocuplurilor la tensiune corespunzând temperaturii de măsurare de 1000 ºC;
C_{S0}, C_{X0}	-	sensibilitățile termocuplurilor la tensiune corespunzând temperaturii de referință de 0 ºC;
δt_D	-	modificarea valorilor termometrelor de referință în perioada de la ultima etalonare a acestora datorită derivei în timp;
δt_F	-	corecția de temperatură datorită neuniformității temperaturii cuptorului;
t	-	temperatura la care urmează să fie etalonat termocuplul (punctul de etalonare);
$\Delta t = t - t_X$	-	abaterea temperaturii punctului de etalonare de la temperatura cuptorului;
δV_{LX}	-	corecția de tensiune datorită cablurilor de compensare.

S5.4 Rezultatul declarat este tensiunea electromotoare de ieşire a termocuplului la temperatura joncțiunii sale calde. Deoarece procesul de măsurare se desfăşoară în doi paşi — determinarea temperaturii cuptorului şi determinarea tensiunii electromotoare a termocuplului ce trebuie etalonat — evaluarea incertitudinii de măsurare se împarte în două părți.

S5.5 Etaloanele de referință ($t_S(V)$): Termocuplurile de referință sunt furnizate cu certificate de etalonare care stabilesc relația dintre temperatura la care se află joncțiunea caldă cu joncțiunea rece la 0 ºC şi tensiunea la bornele acestora. Incertitudinea de măsurare extinsă la 1000 ºC este $U = 0{,}3$ ºC (factorul de acoperire $k = 2$).

S5.6 Etalonarea voltmetrului (δV_{iS1}, δV_{iX1}): Voltmetrul a fost etalonat. Corecțiile tensiunilor măsurate se aplică tuturor rezultatelor. Certificatul de etalonare indică pentru tensiuni mai mici de 50 mV o incertitudine de măsurare extinsă constantă $U = 2{,}0$ µV (factor de acoperire $k = 2$).

S5.7 Rezoluția voltmetrului (δV_{iS2}, δV_{iX2}): S-a utilizat un microvoltmetru cu 4½ cifre pe intervalul său de 10 mV rezultând o rezoluție în limitele de ±0,5 µV pentru fiecare indicație.

S5.8 Tensiunile parazite (δV_R): Tensiunile parazite de offset datorate contactelor comutatorului au fost estimate a fi zero în limitele de ±2 µV.

S5.9 Temperaturile de referință (δt_{0S}, δt_{0X}): Temperatura punctului de referință al fiecărui termocuplu se cunosc a fi 0 ºC în limitele de ±0,1 ºC.

S5.10 Sensibilitățile la tensiune (C_S, C_X, C_{S0}, C_{X0}): Sensibilitățile la tensiune ale termocuplurilor au fost extrase din tabelele de referință:

	1000 ºC	0 ºC
termocuplu de referință	C_S = 0,077 ºC/µV	C_{S0} = 0,189 ºC/µV
termocuplu necunoscut	C_X = 0,026 ºC/µV	C_{S0} = 0,039 ºC/µV

S5.11 Deriva etalonului de referință (δt_D): Pe baza etalonărilor anterioare, deriva în timp se estimează a fi zero în limitele de ±0,3 ºC.

S5.12 Gradientele de temperatură (δt_F): Au fost măsurate gradientele de temperatură în interiorul cuptorului. La 1000 ºC, abaterile datorită neuniformității temperaturii în regiunea de măsurare sunt în limitele de ±1 ºC.

S5.13 Cablurile de compensare (δV_{LX}): Cablurile de compensare au fost investigate în domeniul de la 0 ºC la 40 ºC. Din aceasta, diferențele de tensiune între cabluri şi terminalele termocuplului sunt estimate a fi în limitele de ±5 µV.

S5.14 Măsurările (V_{iS}, $t_S(V_{iS})$, V_{iX}): Indicațiile voltmetrului sunt înregistrate în următoarea procedură operațională, care furnizează patru citiri pentru fiecare termocuplu şi reduce efectele derivei sursei de temperatură şi pe cele ale tensiunilor termo-electromotoare parazite în circuitul de măsurare:

Primul ciclu:

Primul etalon, termocuplul necunoscut, al doilea etalon,

Al doilea etalon, termocuplul necunoscut, primul etalon.

Inversarea polarității.

Al doilea ciclu:

Primul etalon, termocuplul necunoscut, al doilea etalon,

Al doilea etalon, termocuplul necunoscut, primul etalon.

S5.15 Procedura cere ca diferența dintre cele două etaloane de referință să nu depăşească ±0,3 ºC. Dacă diferența nu se încadrează între aceste limite, observările trebuie să fie repetate şi / sau cauzele pentru diferențe atât de mari trebuie să fie investigate.

Termocuplul	**Referința 1**	**Necunoscut**	**Referința 2**
Tensiunea indicată, corectată	+10500 µV	+36245 µV	+10503 µV
	+10503 µV	+36248 µV	+10503 µV
	-10503 µV	-36248 µV	-10505 µV
	-10504 µV	-36251 µV	-10505 µV
Tensiunea medie	10502,5 µV	36248 µV	10504 µV
Temperatura joncțiunii calde	1000,4 ºC		1000,6 ºC
Temperatura cuptorului		1000,5 ºC	

S5.16 Din cele patru citiri ale fiecărui termocuplu date în tabelul de mai sus, se deduce valoarea medie a tensiunilor pentru fiecare termocuplu. Valorile de tensiune ale termocuplurilor de referință sunt convertite în valori de temperatură cu ajutorul relațiilor de conversie date în certificatele de etalonare ale acestora. Valorile de temperatură observate sunt cu un grad înalt de corelație (factorul de corelație aproape de unu) Ca urmare, prin considerarea valorii lor medii, acestea sunt combinate într-o singură observare, care este temperatura cuptorului în zona în care se află termocuplul supus etalonării. Într-un mod asemănător, s-a extras o observare a tensiunii termocuplului supus etalonării. Pentru a evalua incertitudinea de măsurare asociată acestor observări, s-a efectuat anterior o serie de zece măsurări la aceeaşi temperatură de lucru. Aceasta a condus la o câte estimație globală a abaterii standard pentru temperatura cuptorului şi pentru tensiunea termocuplului supus etalonării.

Incertitudinile de măsurare standard respective ale mărimilor observate sunt:

Estimația globală a abaterii standard: $s_p(t_S) = 0{,}10$ ºC

Incertitudinea standard: $u(t_S) = \dfrac{s_p(t_S)}{\sqrt{1}} = 0{,}10$ ºC

Estimația globală a abaterii standard: $s_p(V_{iX}) = 1{,}6$ µV

Incertitudinea standard: $u(V_{iX}) = \dfrac{s_p(V_{iX})}{\sqrt{1}} = 1{,}6$ µV

S5.17 Bugetul de incertitudine (temperatura t_X a cuptorului):

Mărimea X_i	Estimația x_i	Incertitudinea standard $u(x_i)$	Distribuția de probabilitate	Coeficientul de sensibilitate c_i	Contribuția la incertitudine $u_i(y)$
t_S	1000,5 ºC	0,10 ºC	normală	1,0	0,10 ºC
δV_{iS1}	0 µV	1,00 µV	normală	0,077 ºC/µV	0,077 ºC
δV_{iS2}	0 µV	0,29 µV	rectangulară	0,077 ºC/µV	0,022 ºC
δV_R	0 µV	1,15 µV	rectangulară	0,077 ºC/µV	0,089 ºC
δt_{0S}	0 ºC	0,058 ºC	rectangulară	-0,407	-0,024 ºC
δt_S	0 ºC	0,15 ºC	normală	1,0	0,15 ºC
δt_D	0 ºC	0,173 ºC	rectangulară	1,0	0,173 ºC
δt_F	0 ºC	0,577 ºC	rectangulară	1,0	0,577 ºC
t_X	1000,5 ºC				0,641 ºC

S5.18 Bugetul de incertitudine (tensiunea electromotoare V_X a termocuplului supus etalonării):

Incertitudinea de măsurare standard asociată abaterii temperaturii punctului de etalonare de la temperatura cuptorului este incertitudinea de măsurare standard asociată temperaturii cuptorului, deoarece punctul de temperatură este o valoare definită (cunoscută exact).

Mărimea X_i	Estimația x_i	Incertitudinea standard $u(x_i)$	Distribuția de probabilitate	Coeficientul de sensibilitate c_i	Contribuția la incertitudine $u_i(y)$
V_{iX}	36 248 µV	1,60 µV	normală	1,0	1,60 µV
δV_{iX1}	0 µV	1,00 µV	normală	1,0	1,00 µV
δV_{iX2}	0 µV	0,29 µV	rectangulară	1,0	0,29 µV
δV_R	0 µV	1,15 µV	rectangulară	1,0	1,15 µV
δV_{LX}	0 µV	2,9 µV	rectangulară	1,0	2,9 µV
Δt	0,5 ºC	0,641 ºC	normală	38,5 µV/ºC	24,5 µV
δt_{0X}	0 ºC	0,058 ºC	rectangulară	-25,6 µV/ºC	-1,48 µV
V_X	36 229 µV				25,0 µV

S5.19 Incertitudinile extinse

Incertitudinea extinsă asociată măsurării temperaturii cuptorului este

$U = k \times u(t_X) = 2 \times 0{,}641\ ^\circ\text{C} \cong 1{,}3\ ^\circ\text{C}$

Incertitudinea extinsă asociată tensiunii electromotoare a termocuplului supus etalonării este

$U = k \times u(V_X) = 2 \times 25{,}0\ \mu\text{V} \cong 50\ \mu\text{V}$

S5.20 Raportarea rezultatului

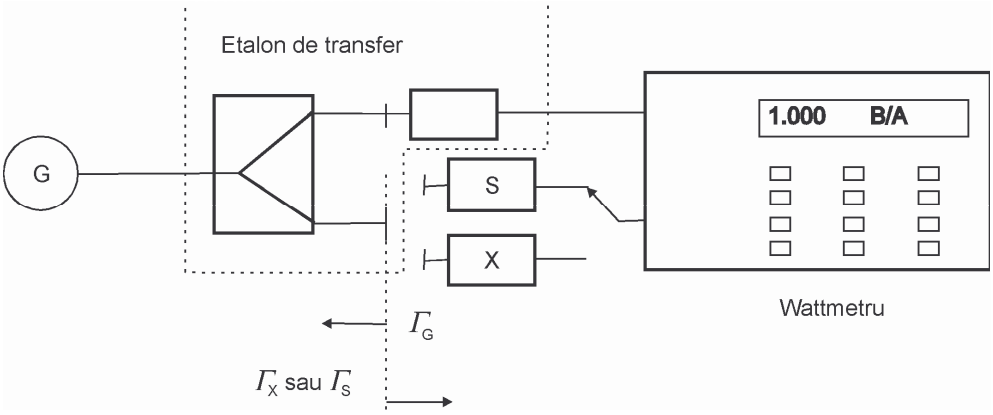
Termocuplul de ti N prezintă, la temperatura de 1000,0 ºC, cu joncțiunea sa rece la o temperatură de 0 ºC, o tensiune electromotoare de 36 230 µV ± 50 µV.

Incertitudinea de măsurare extinsă declarată este dată ca incertitudine de măsurare standard multiplicată cu factorul de acoperire $k = 2$, care, în cazul unei distribuții normale, corespunde unei probabilități de acoperire de aproximativ 95 %.

S6 ETALONAREA UNUI CAP DE MĂSURĂ A PUTERII LA FRECVENȚA DE 19 GHz

S6.1 Măsurarea constă în etalonarea unui cap de măsură a puterii necunoscut față de un cap de măsură etalonat, utilizat ca referință, prin substituție pe un etalon de transfer stabil, cu un coeficient de reflexie mic, cunoscut. Măsurarea se efectuează în termeni de factor de etalonare, care este definit ca raportul dintre puterea incidentă la frecvența de referință de 50 MHz şi puterea incidentă la frecvența de etalonare, în condițiile în care ambele puteri incidente determină un răspuns egal al capului de măsură. La fiecare frecvență, se determină raportul (indicat) de puteri pentru capul de măsură supus etalonării, respectiv pentru capul de măsură de referință, şi capul de măsură intern care formează o parte a etalonului de transfer, utilizând un wattmetru dual cu funcție de raport.

S6.2 Schema sistemului de măsurare



S6.3 Mărimea K, numită de unii fabricanți 'factor de etalonare', se defineşte ca:

$$K = \frac{P_{|r}}{P_{|c}} = \frac{(1+|\Gamma_r|^2)P_{Ar}}{(1+|\Gamma_c|^2)P_{Ac}} \qquad \text{(S6.1)}$$

pentru indicații egale ale wattmetrului

unde:

$P_{|r}$ - puterea incidentă la frecvența de referință (50 MHz),

$P_{|c}$ - puterea incidentă la frecvența de etalonare,

Γ_r - coeficientul de reflexie în tensiune al capului de măsură la frecvența de referință

Γ_c - coeficientul de reflexie în tensiune al capului de măsură la frecvența de etalonare

P_{Ar} - puterea absorbită de capul de măsură la frecvența de referință

P_{Ac} - puterea absorbită de capul de măsură la frecvența de etalonare

S6.4 Factorul de etalonare al capului de măsură necunoscut se obține din relația

$$K_X = (K_S + K_D)\,\frac{M_{Sr}M_{Xc}}{M_{Sc}M_{Xr}}\,p_{Cr}p_{Cc}p \qquad \text{(S6.2)}$$

unde:

K_S - factorul de etalonare al capului de măsură de referință;

δK_D - variația factorului de etalonare al capului de măsură de referință de la ultima sa etalonare datorită derivei în timp;

M_{Sr} - factorul de neadaptare al capului de măsură de referință la frecvența de referință;

M_{Sc} - factorul de neadaptare al capului de măsură etalon la frecvența de etalonare;

M_{Xr} - factorul de neadaptare al capului de măsură supus etalonării la frecvența de referință;

M_{Xc} - factorul de neadaptare al capului de măsură supus etalonării la frecvența de etalonare;

p_{Cr} - corecția aplicată raportului observat pentru nelinearitatea şi rezoluția limitată a wattmetrului pentru nivelul de raport de puteri la frecvența de referință;

p_{Cc} - corecția aplicată raportului observat pentru nelinearitatea şi rezoluția limitată a wattmetrului pentru nivelul de raport de puteri la frecvența de etalonare;

$p = \frac{p_{Sr}p_{Xc}}{p_{Sc}p_{Xr}}$ - raportul observat dintre rapoartele de puteri deduse din:

p_{Sr} - raportul de puteri indicat pentru capul de măsură de referință la frecvența de referință;

p_{Sc} - raportul de puteri indicat pentru capul de măsură de referință la frecvența de etalonare;

p_{Xr} - raportul de puteri indicat pentru capul de măsură supus etalonării la frecvența de referință;

p_{Xc} - raportul de puteri indicat pentru capul de măsură supus etalonării la frecvența de etalonare.

S6.5 Capul de măsură de referință (K_S): Capul de măsură de referință a fost etalonat cu şase luni înaintea etalonării capului de măsură necunoscut. Valoarea factorului de etalonare, dată în certificatul de etalonare, este (95,7±1,1) % (factor de acoperire $k = 2$), care poate fi exprimată şi ca 0,957±0,011.

S6.6 Deriva în timp a etalonului (δK_D): Deriva în timp a factorului de etalonare al etalonului de referință se estimează pe baza etalonărilor anuale a fi -0,002 pe an, cu abateri în limitele de ±0,004. Pe baza acestor valori, deriva capului de măsură de referință, care a fost etalonat cu jumătate de an înainte, se estimează a fi egală cu -0,001, cu abateri în limitele de ±0,002.

S6.7 Linearitatea şi rezoluția wattmetrului (p_{Cr}, p_{Cc}): Datorită nelinearității wattmetrului utilizat, se asociază indicațiilor wattmetrului o incertitudine extinsă de 0,002 (factor de acoperire $k = 2$) pentru nivelul de raport de puteri la frecvența de referință şi o incertitudinea extinsă de 0,0002 (factor de acoperire $k = 2$) pentru nivelul de raport de puteri la frecvența de etalonare. Aceste valori au fost obținute din măsurări anterioare. Cum acelaşi wattmetru a fost folosit pentru a observa atât p_S cât şi p_X, contribuțiile la incertitudine atât la frecvența de referință cât şi la frecvența de etalonare sunt corelate. Deoarece se iau în considerare rapoartele de puteri la ambele frecvențe, efectul corelațiilor este de reducere a incertitudinii. Astfel, doar diferența relativă dintre citiri datorate efectelor sistematice trebuie să fie luate în considerare (a se vedea nota matematică din paragraful S3.12), ceea ce conduce la o incertitudine standard de 0,00142 asociată cu factorul de corecție p_{Cr} şi de 0,000142 asociată cu factorul de corecție p_{Cc}.

Incertitudinea de măsurare extinsă declarată pentru indicațiile wattmetrului cuprinde efectele liniarității şi rezoluției. Efectele liniarității sunt corelate, în timp ce efectele rezoluției sunt necorelate, Aşa cum s-a arătat în S 3.12, calculând raportul de puteri se anulează influența corelațiilor şi conduce la reducere a incertitudinii de măsurare standard asociate cu acest raport. În calculele de mai sus, totuşi, contribuțiile separate corelate şi necorelate nu sunt cunoscute şi valorile date sunt limite superioare pentru incertitudinea de măsurare standard asociată cu aceste rapoarte. Bugetul de incertitudine indică în final că toate contribuțiile determinate din aceste rapoarte sunt nesemnificative, ceea ce înseamnă că aproximațiile sunt justificate.

S6.8 Factorii de neadaptare (M_{Sr}, M_{Sc}, M_{Xr}, M_{Xc}): Cum sistemul etalon de transfer nu este perfect adaptat, iar faza coeficienților de reflexie ai etalonului de transfer, ai capetelor de măsurare necunoscut şi etalon nu sunt cunoscuți, va exista o incertitudine datorată neadaptării fiecăruia dintre capetele de măsură la frecvența de referință şi la frecvența de etalonare. Limitele corespunzătoare pentru abateri trebuie să fie calculate pentru frecvențele de referință şi de etalonare cu ajutorul relației:

$$M_{S,X} = 1 \pm 2\left|\Gamma_G\right\|\Gamma_{S,X}\left| \qquad \text{(S6.3)}$$

în care mărimile coeficienților de reflexie ai etalonului de transfer, ai capului de măsură de referință şi ai capului de măsură supus etalonării sunt:

	50 MHz	18 GHz
$\lvert\Gamma_G\rvert$	0,02	0,07
$\lvert\Gamma_S\rvert$	0,02	0,10
$\lvert\Gamma_X\rvert$	0,02	0,12

Distribuția de probabilitate pentru contribuțiile individuale este în formă de U. Acest lucru este luat în considerare prin înlocuirea factorului 1/3, care corespunde unei distribuții rectangulare, cu factorul 1/2, atunci când se calculează varianța din pătratul semi-lărgimii determinată din aceste limite. Incertitudinea standard datorată neadaptării se obține deci din:

$$u(M_{S,X}) = \frac{2\left|\Gamma_G\right\|\Gamma_S\left|}{\sqrt{2}} \qquad \text{(S6.4)}$$

Notă: Valorile coeficienților de reflexie sunt rezultatul unor măsurări care sunt ele însele afectate de incertitudini. De aceasta se ține cont prin adăugarea rădăcinii pătrate a sumei dintre pătratul incertitudinii de măsurare şi pătratul valorii măsurate.

S6.9 Corelația: Nici una dintre mărimile de intrare nu se consideră a fi corelată într-o măsură semnificativă.

S6.10 Măsurările (p): S-au efectuat trei citiri separate, ceea ce presupune deconectarea şi re-conectarea la etalonul de transfer atât a capului de măsură de referință cât şi a capului de măsură supus etalonării, şi deci repetabilitatea conectorului trebuie luată în considerare. Indicațiile wattmetrului utilizate la calculul raportului de puteri observat p sunt următoarele:

Obs. nr	p_{Sr}	p_{Sc}	p_{Xr}	p_{Xc}	p
1	1,0001	0,9924	1,0001	0,9698	0,9772
2	1,0000	0,9942	1,0000	0,9615	0,9671
3	0,9999	0,9953	1,0001	0,9792	0,9836

media aritmetică: $\overline{p} = 0{,}9760$

abaterea standard experimentală: $s(p) = 0{,}0083$

incertitudinea standard: $u(p) = s(\overline{p}) = \dfrac{0{,}0083}{\sqrt{3}} = 0{,}0048$

S6.11 Bugetul de incertitudine (K_X):

Mărimea X_i	Estimația x_i	Incertitudinea standard $u(x_i)$	Distribuția de probabilitate	Coeficientul de sensibilitate c_i	Contribuția la incertitudine $u_i(y)$
K_S	0,957	0,0055	normală	0,976	0,00537
δK_D	-0,001	0,0012	rectangulară	0,976	0,00113
M_{Sr}	1,000	0,0006	în formă de U	0,933	0,00053
M_{Sc}	1,000	0,0099	în formă de U	-0,933	0,00924
M_{Xr}	1,000	0,0006	în formă de U	-0,933	-0,00053
M_{Xc}	1,000	0,0119	în formă de U	0,933	0,01110
p_{Cr}	1,000	0,0014	normală	0,933	0,00132
p_{Cc}	1,000	0,0001	normală	0,933	0,00013
p	0,976	0,0048	normală	0,956	0,00459
K_X	0,933				0,01623

S6.12 Incertitudinea extinsă:

$U = k \times u(K_X) = 2 \times 0{,}01623 \cong 0{,}032$

S6.13 Raportarea rezultatului:

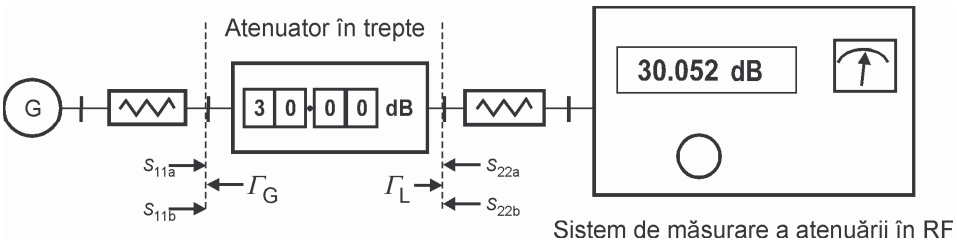
Factorul de etalonare al capului de măsură la 18 GHz este 0,933 ± 0,032, care poate fi de asemenea exprimat ca (93,3±3,2) %.

Incertitudinea de măsurare extinsă declarată este dată ca incertitudine de măsurare standard multiplicată cu factorul de acoperire $k = 2$, care, în cazul unei distribuții normale, corespunde unei probabilități de acoperire de aproximativ 95 %.

S7 ETALONAREA UNUI ATENUATOR COAXIAL ÎN TREPTE LA UN NIVEL DE 30 dB (ATENUARE PROGRESIVĂ)

S7.1 Măsurarea constă în etalonarea unui atenuator coaxial în trepte la 10 GHz, utilizând un sistem de măsurare a atenuării ce conține un atenuator în trepte etalonat, care are rolul de referință de atenuare. Metoda de măsurare presupune determinarea atenuării între o sursa adaptată şi o sarcină adaptată. În acest caz, atenuatorul necunoscut poate fi comutat între nivelele de 0 dB şi 30 dB şi această variație (numită atenuare progresivă) este ceea ce se determină în cadrul procesului de etalonare. Sistemul de măsurare a atenuării are un afişaj digital şi un detector de nul analogic, care este utilizat pentru a indica realizarea echilibrului.

S7.2 Schema sistemului de măsurare



Sistem de măsurare a atenuării în RF

S7.3 Atenuarea L_X a atenuatorului care se etalonează se obține din relația:

$$L_X = L_S + \delta L_S + \delta L_D + \delta L_M + \delta L_K + \delta L_{ib} - \delta L_{ia} + \delta L_{0b} - \delta L_{0a} \qquad \text{(S7.1)}$$

unde:

$L_S = L_{ib} - L_{ia}$ - diferența de atenuare a atenuatorului de referință dedusă pe baza:

L_{ia} - atenuarea indicată cu atenuatorul supus etalonării reglat la nivelul de 0 dB;

L_{ib} - atenuarea indicată cu atenuatorul supus etalonării reglat la nivelul de 30 dB;

δL_S - corecția obținută din etalonarea atenuatorului de referință;

δL_D - variația atenuării atenuatorului de referință în perioada de la ultima sa etalonare, datorită derivei în timp;

δL_M - corecția datorită pierderilor de neadaptare;

δL_K - corecția pentru semnalele de scurgeri între intrarea şi ieşirea atenuatorului supus etalonării datorită izolației imperfecte;

δL_{ia}, δL_{ib} - corecțiile datorită rezoluției limitate a detectorului de referință la nivelele de 0 dB şi 30 dB;

δL_{0a}, δL_{0b} - corecțiile datorită rezoluției limitate a detectorului de nul la nivelele de 0 dB şi 30 dB.

S7.4 Atenuatorul de referință (δL_S): Certificatul de etalonare al atenuatorului de referință indică o valoare a atenuării pentru nivelul de 30,000 dB la 10 GHz de 30,003 dB, cu o incertitudine extinsă asociată de 0,005 dB (factor de acoperire $k = 2$). Corecția de +0,003 dB cu incertitudinea extinsă asociată de 0,005 dB (factor de acoperire $k = 2$) se consideră a fi valabilă pentru nivelele reglate ale atenuatorului de referință care nu diferă cu mai mult de ±0,1 dB de la nivelul etalonat de 30,000 dB.

S7.5 Deriva în timp a referinței (δL_D): Deriva în timp a atenuării atenuatorului de referință este estimată pe baza istoricului de etalonare al acestuia ca fiind zero cu limitele de ±0,002 dB.

S7.6 Pierderile de neadaptare (δL_M): Coeficienții de reflexie ai sursei şi ai sarcinii în punctul de inserție al atenuatorului supus etalonării au fost optimizați prin adaptarea impedanței la valori cât mai mici posibile. Mărimile lor şi mărimile coeficienților de împrăştiere ai atenuatorului au fost măsurate dar faza acestora este necunoscută. În absența oricărei informații despre fază, nu se poate face o corecție pentru eroarea de neadaptare, dar incertitudinea standard (in dB) datorată cunoaşterii incomplete a gradului de adaptare se estimează cu ajutorul relației [1]:

$$u(\delta L_M)=\frac{8.686}{\sqrt{2}}\sqrt{|\Gamma_S|^2(|s_{11a}|^2+|s_{11b}|^2)+|\Gamma_L|^2(|s_{22a}|^2+|s_{22b}|^2)+|\Gamma_S|^2\times|\Gamma_L|^2(|s_{21a}|^4+|s_{21b}|^4)} \qquad \text{(S7.2)}$$

cu coeficienții de reflexie pentru sursă şi pentru sarcină

$\Gamma_L = 0{,}03$ şi $\Gamma_S = 0{,}03$

iar coeficienții de împrăştiere ai atenuatorului supus etalonării la 10 GHz

	0 dB	30 dB
s_{11}	0,05	0,09
s_{22}	0,01	0,01
s_{21}	0,95	0,031

cum $u(\delta L_M) = 0{,}02$ dB.

Notă: Valorile coeficienților de împrăştiere şi de reflexie rezultă din măsurări care nu sunt ni ele cunoscute cu exactitate. De aceasta se ține cont prin adăugarea rădăcinii pătrate a sumei dintre pătratul incertitudinii de măsurare şi pătratul valorii măsurate.

S7.7 Corecția de scurgeri (δL_K): Semnalele de scurgeri prin atenuatorul supus etalonării au fost estimate din măsurări la nivelul reglat de 0 dB ca fiind cel puțin 100 dB sub nivelul semnalului de măsurare. Pe baza acestor constatări, corecția pentru semnalele de scurgeri a fost estimată a fi între limitele ±0,003 dB la nivelul reglat de 30 dB.

S7.8 Rezoluția reglajului atenuatorului de referință (δLia, δLib): Afişajul digital al atenuatorului de referință are o rezoluție de 0,001 dB pe baza căreia corecția pentru rezoluție se estimează a fi între limitele ±0,0005 dB.

S7.9 Rezoluția detectorului de nul (δL_{0a}, δL_{0b}): Rezoluția detectorului a fost determinată dintr-o evaluare anterioară ca având o abatere standard de 0,002 dB la fiecare citire, cu o distribuție de probabilitate presupusă normală.

S7.10 Corelația: vici una dintre mărimile de intrare nu se consideră a fi corelată într-o măsură semnificativă.

S7.11 Măsurările (L_S): S-au efectuat patru observații ale atenuării diferențiale a atenuatorului supus etalonării între nivelele reglate de 0 dB şi 30 dB:

Obs. nr.	Valorile observate la	
	nivel 0 db0	Nivel 30 dB
1	0,000 dB	30,033 dB
2	0,000 dB	30,058 dB
3	0,000 dB	30,018 dB
4	0,000 dB	30,052 dB

media aritmetică: $\overline{L_S}$ = 30 040 db

abaterea standard experimentală: $s(l_S)$ = 0,018 db

incertitudinea standard: $u(L_S) = s(\overline{L_S}) = \frac{0{,}018\ dB}{\sqrt{4}} = 0{,}009$ dB

S7.12 Bugetul de incertitudine (L_X):

Mărimea X_i	Estimația x_I	Incertitudinea standard $u(x_i)$	Distribuția de probabilitate	Coeficientul de sensibilitate c_i	Contribuția la incertitudine $u_i(y)$
L_S	30,040 dB	0,0090 dB	normală	1,0	0,0090 dB
δL_S	0,003 dB	0,0025 dB	rectangulară	1,0	0,0025 dB
δL_D	0 dB	0,0011 dB	în formă de U	1,0	0,0011 dB
δL_M	0 dB	0,0200 dB	în formă de U	1,0	0,0200 dB
δL_K	0 dB	0,0017 dB	în formă de U	1,0	0,0017 dB
δL_{ia}	0 dB	0,0003 dB	în formă de U	-1,0	-0,0003 dB
δL_{ib}	0 dB	0,0003 dB	rectangulară	1,0	0,0019 dB
δL_{0a}	0 dB	0,0020 dB	rectangulară	-1,0	0,0020 dB
δL_{0b}	0 dB	0,0020 dB	normală	1,0	-0,0020 dB
L_X	30,043 dB				0,0224 dB

S7.13 Incertitudinea extinsă:

$U = k \times u(L_X) = 2 \times 0{,}0224 \text{ dB} \cong 0{,}045 \text{ dB}$

S7.14 Raportarea rezultatului:

Valoarea măsurată a atenuatorului în trepte pentru un nivel reglat de 30 dB la 10 GHz este (30,043 ±0,045) dB.

Incertitudinea de măsurare extinsă declarată este dată ca incertitudine de măsurare standard multiplicată cu factorul de acoperire $k = 2$, care, în cazul unei distribuții normale, corespunde unei probabilități de acoperire de aproximativ 95 %.

S7.15 Referință bibliografică

[1] Harris, I. A.; Warner, F. L.: *Re-examination of mismatch uncertainty when measuring microwave power and attenuation*.[1] In: IEE Proc., Vol. 128, Pt. H, No. 1, Febr. 1981

[1] Re-examinarea incertitudinii datorate neadaptării în cazul măsurării puterii şi atenuării în microunde (în limba Engleză - Nota trad.)

SUPLIMENTUL 2

Exemple

CUPRINS

S8	INTRODUCERE	57
S9	ETALONAREA UNUI MULTIMETRU DIGITAL PORTABIL LA 100 V CC	60
S10	ETALONAREA UNUI ŞUBLER	65
S11	ETALONAREA UNUI BLOC ETALON DE TEMPERATURĂ LA TEMPERATURA DE 180 ºC	70
S12	ETALONAREA UNUI CONTOR DE APĂ DE UZ CASNIC	73
S13	ETALONAREA UNUI CALIBRU ETALON TIP INEL CU DIAMETRUL NOMINAL DE 90 mm	78

S8 INTRODUCERE

S8.1 Exemplele următoare sunt alese pentru a continua demonstrarea metodei de evaluarea a incertitudinii de măsurare. Acestea suplimentează exemplele prezentate în Suplimentul 1 la EAL-R2 (Ediția 1, Noiembrie 1997). Prezenta colecție de exemple se concentrează pe situații în care există doi termeni dominanți în propagarea incertitudinii sau în care numărul de măsurări repetate este mic.

S8.2 Exemplele sunt alese pentru a ilustra situații întâlnite în practică. Trebuie totuşi remarcat faptul că, în aplicațiile practice, nu este nevoie să se efectueze toate deducerile matematice prezentate în aceste exemple, în particular cele din notele matematice care sunt ataşate unora dintre aceste exemple. Utilizatorul este mai curând încurajat să folosească rezultatele prezentărilor teoretice, după ce s-a familiarizat cu condițiile pe care trebuie să le îndeplinească. De exemplu, dacă, într-o situație dată, se presupune că rezultatul măsurării are o distribuție rectangulară (aşa cum este cazul atunci când există un singur termen, distribuit rectangular, care trebuie luat în considerare în propagare), se poate concluziona imediat că factorul de acoperire care trebuie folosit pentru a avea o probabilitate de acoperire de 95 % este $k = 1{,}65$ (a se vedea S9.14).

S8.3 O concluzie generală ce poate fi formulată pe baza propagării incertitudinii este că, atunci când există doar o singură contribuție dominantă, tipul de distribuție al acestei contribuții se aplică şi rezultatului măsurării. Totuşi, pentru a evalua incertitudinea rezultatului măsurării, trebuie folosit, ca de obicei, coeficientul de sensibilitate aplicabil.

S8.4 Trebuie adăugat că situațiile în care există fie numai unul singur fie numai câțiva termeni dominanți pentru incertitudinea de măsurare se întâlnesc adeseori în legătură cu instrumente de măsurare mai puțin complicate, în care caz terenul dominant se datorează rezoluției limitate a instrumentului. Astfel, s-ar putea să pară un paradox faptul că tratarea incertitudinii de măsurare pentru instrumente mai puțin complicate, aşa cum se arată în exemplele din acest Supliment, este mai complicată decât exemplele mai directe din Suplimentul 1. Cu toate acestea, trebuie reținut faptul că explicațiile matematice, care pot părea nişte complicații, sunt inserate din rațiuni pedagogice în locul în care acestea sunt necesare în loc să fie prezentate în cuprinsul corpului principal al documentului.

S8.5 Exemplele se bazează pe proiectele elaborate de Grupul de Experți EA. Aceste proiecte au fost simplificate şi armonizate pentru a le face mai clare pentru personalul de laborator din toate domeniile de etalonări. Se speră astfel că acest set de exemple, ca şi setul precedent publicat ca Suplimentul 1 la EAL R-2, va contribui la o mai bună înțelegere a detaliilor legate de stabilirea modelului pentru evaluare şi la armonizarea procesului de evaluare a incertitudinii de măsurare, independent de domeniul de etalonare.

S8.6 Contribuțiile şi valorile date în exemple nu trebuie interpretate ca fiind cerințe obligatorii sau preferate. Laboratoarele trebuie să determine contribuțiile la incertitudinea de măsurare pe baza funcției de modelare aplicate de acestea pentru evaluarea etalonării specifice pe care o efectuează şi să declare incertitudinea de măsurare evaluată în certificatul de etalonare pe care îl emit.

S8.7 Prezentarea exemplelor urmează schema de prezentare aplicată în primul supliment la EAL R-2. Pentru detalii, cititorul este trimis la punctul S1.4 din acel document.

S8.8 Analiza incertitudinii din exemple se intenționează să ilustreze aspectele fundamentale ale procesului de măsurare specific şi metoda de evaluare a rezultatului măsurării şi a incertitudinii asociate. Pentru a menține claritatea analizei şi pentru cei care nu sunt experți în domeniul metrologic relevant, s-a urmat o metodă uniformă pentru alegerea simbolurilor mărimilor, concentrându-se atenția mai mult pe fundamentarea fizică decât pe practica curentă din diversele domenii.

S8.9 Există câteva mărimi care apar cu regularitate în toate cazurile. Una dintre acestea este măsurandul, adică mărimea care este măsurată, alta este mărimea furnizată de etalonul de referință, care realizează local unitatea; cu această mărime se compară măsurandul. Pe lângă aceste două mărimi, mai sunt, în toate cazurile, şi alte câteva, care au rolul de mărimi locale suplimentare sau corecții.

S8.10 Corecțiile descriu egalitatea imperfectă dintre măsurand şi rezultatul unei măsurări. Unele corecții sunt date de rezultate complete ale unor măsurări, adică o valoare măsurată şi incertitudinea asociată acesteia. Pentru altele, distribuția de valori este dedusă din cunoaşterea mai mult sau mai puțin completă a naturii lor. În cele mai multe cazuri, aceasta va conduce la o estimare a limitelor pentru abaterile necunoscute.

S8.11 În anumite cazuri, mărimea reprezentată de un anumit etalon de lucru este caracterizată de valoarea nominală a etalonului. Astfel, valorile nominale, care, în general vorbind, caracterizează sau identifică etaloanele materiale, sunt adeseori incluse în analiza incertitudinii.

S8.12 Pentru a putea face distincția între aceste concepte în modelele matematice, exemplele au fost gândite să urmeze regulile de notare date mai jos. Este totuşi evident că nu este posibil să se urmeze aceste reguli cu strictețe, deoarece practica referitoare la utilizarea simbolurilor este diferită în diferite domenii metrologice.

S8.13 Notația aplicată aici distinge între valori principale, valori nominale, valori de corecție şi valori limită:

Valorile principale sunt valori măsurate sau observate care au o contribuție esențială la valoarea măsurandului. Acestea sunt reprezentate prin litere mici cu caractere italice (cursive); ele vor fi precedate de litera grecească delta majusculă dacă mărimea reprezintă o diferență.

EXEMPLE:

T_{iX} - temperatura indicată de un termometru X supus etalonării. (indicele i înseamnă indicat),

Δl - diferența observată în deplasarea unui ax de măsurare.

Valorile nominale sunt valori atribuite realizării unei mărimi de către un etalon sau un instrument de măsură. Acestea sunt valori aproximative care indică valoarea principală a unei valori realizate. Ele sunt reprezentate prin litere majuscule italice (cursive).

EXEMPLU:

L - lungimea nominală a unei cale plan paralele supuse etalonării.

Valorile corective dau mici abateri de la valorile principale care sunt cunoscute sau trebuie să fie estimate. În cele mai multe cazuri acestea sunt aditive. Ele sunt reprezentate prin simbolul ales pentru mărimea respectivă, precedat de litera grecească delta mică.

EXEMPLE:

δm_D - abaterea posibilă datorată derivei în timp a valorii unei greutăți etalon de la ultima sa etalonare,

δm_C - corecția pentru excentricitatea încărcării şi efectele magnetice în cazul etalonării unei greutăți.

Valorile limită sunt valori fixe, estimate ale variațiilor posibile ale valorilor necunoscute ale unei mărimi. Acestea sunt reprezentate prin simbolul ales pentru mărimea respectivă, precedat de litera grecească delta majusculă.

EXEMPLU:

$\Delta\alpha_X$ - semi-lărgimea estimată a intervalului abaterilor posibile ale unui coeficient de rezistivitate termică liniară, coeficient dat în specificațiile fabricantului pentru un rezistor supus etalonării.

Diferențierea între diferitele mărimi de acelaşi fel este realizată prin indici aşa cum se arată în exemple. Au fost respectate regulile de notație internațional acceptate pentru mărimile fizice; indicii care reprezintă mărimi fizice apar cu caractere italice (cursive) în timp ce indicii care reprezintă un artefact, instrumente, etc., apar cu caractere drepte.

S8.14 Valorile de referință definite sunt reprezentate prin simbolul pentru mărime cu indicele zero.

EXEMPLU:

p_0 - presiunea de referință, de exemplu, de 1000 mbar.

S8.15 Rapoartele de mărimi de acelaşi fel (rapoarte adimensionale) sunt reprezentate prin litere mici italice (cursive).

EXEMPLU:

$r = R_{iX}/R_{iN}$ - raportul dintre rezistențele indicate pentru un rezistor necunoscut şi un rezistor de referință (indicele *i* înseamnă indicat).

S8.16 Dacă se folosesc mai mulți indici, succesiunea indicilor este aleasă în aşa fel încât indicele care reprezintă conceptul cel mai general să fie în extremitatea stângă iar cel care reprezintă conceptul cel mai specific să fie în extremitatea dreaptă.

EXEMPLU:

V_{i1} , V_{i2} - tensiunea indicată de voltmetrul '1', respectiv, voltmetrul '2'.

S8.17 Se intenționează ca exemplele din al doilea supliment la EAL R-2 să fie urmate de altele, ilustrând diferite aspecte întâlnite în legătură cu etalonarea instrumentelor de măsură. Exemple pot fi de asemenea găsite în Ghidurile EAL şi EA[1] care se referă la etalonarea unor tipuri specifice de instrumente de măsură.

S9 ETALONAREA UNUI VOLTMETRU DIGITAL PORTABIL LA 100 V CC

S9.1 Se etalonează, ca parte a unei etalonări generale, un multimetru digital (DMM) portabil la o tensiune de intrare de 100 V CC, utilizând un calibrator multifuncțional ca etalon de lucru. Se foloseşte următoarea procedură de măsurare:

(1) Se conectează bornele de intrare ale DMM la bornele de ieşire ale calibratorului utilizând cabluri de măsurare adecvate.

---

[1] EAL-G26, Calibration of pressure balances (Etalonarea manometrelor cu piston şi greutăți – Nota trad.)
EAL-G31, Calibration of thermocouples (Etalonarea termocuplurilor – Nota trad.)
EAL-G32, Measurement and generation of small ac voltages with inductive voltage dividers (Măsurarea şi generarea tensiunilor alternative mici cu ajutorul divizoarelor de tensiune – Nota trad.)
EA-10/10, EA Guidelines on the Determination of Pitch Diameter of Parallel Thread gauges by Mechanical Probing (Ghidul EA pentru Determinarea Diametrului Primitiv al Calibrelor de Filete cu Palpatoare Mecanice – Nota trad.)

(2) Se reglează calibratorul pe valoarea de 100 V şi, după o perioada adecvată de stabilizare, se notează indicaţia DMM.

(3) Se calculează eroarea indicaţiei DMM pe baza indicaţiilor DMM şi reglajului calibratorului.

S9.2 Trebuie reţinut că eroarea de indicare a DMM care se obţine folosind această procedură de măsurare include efectele de offset precum şi abaterile de la linearitate.

S9.3 Eroarea de indicare E_X a DMM care este supus etalonării se obţine din

$$E_X = V_{iX} - V_S + \delta V_{iX} - \delta V_S \qquad \text{(S9.1)}$$

unde

V_{iX} - tensiunea, indicată de DMM (indicele i înseamnă indicaţie),

V_S - tensiunea generată de calibrator,

δV_{iX} - corecţia tensiunii indicate datorită rezoluţiei finite a DMM,

δV_S - corecţia tensiunii calibratorului datorită

(1) derivei în timp de la ultima sa etalonare,

(2) abaterilor rezultate din efectul combinat al offset-ului, neliniarităţii şi diferenţelor de câştig,

(3) abaterile temperaturii ambiante,

(4) abaterile tensiunii de la reţea,

(5) efectele de sarcină rezultând din rezistenţa de intrare finită a DMM supus etalonării.

S9.4 Din cauza rezoluţiei limitate a indicaţiilor DMM, nu se observă nici o împrăştiere a valorilor indicate.

S9.5 Indicaţiile DMM (V_{iX})

DMM indică tensiunea de 100,1 V când calibratorul este reglat pe valoarea de 100 V. Se presupune că indicaţia DMM este exactă (a se vedea S9.4).

S9.6 Etalonul de lucru (V_S)

Certificatul de etalonare al calibratorului multifuncţional arată că tensiunea generată este valoarea indicată de reglajul calibratorului şi că incertitudinea de măsurare relativă extinsă asociată este W = 0,000 02 (factor de acoperire k = 2), rezultând o incertitudine de măsurare extinsă asociată valorii reglate de 100 V de U = 0,002 V (factor de acoperire k = 2).

S9.7 Rezoluţia DMM supus etalonării (δV_{iX})

Cifra cea mai puţin semnificativă de pe afişajul DMM corespunde la 0,1 V. Fiecare indicaţie a DMM are o corecţie datorită rezoluţiei finite a afişajului,

care se estimează a fi de 0,0 V cu limite de +0.05 V (adică jumătate din valoarea cifrei celei mai puțin semnificative).

S9.8 Alte corecții (δV_S)

Datorită faptului că nu sunt disponibile cifre individuale, incertitudinea de măsurare asociată cu diversele surse este dedusă din specificațiile de exactitate date de fabricantul calibratorului. Conform acestor specificații, tensiunea generată de calibrator coincide cu valoarea reglată în limitele de $\pm(0{,}000\ 1 \times V_S + 1\ \text{mV})$[1] în condițiile de măsurare:

(1) temperatura ambiantă este în domeniul 18 ºC to 23 ºC

(2) tensiunea de la rețea care alimentează calibratorul este în domeniul de la 210 V la 250 V,

(3) sarcina rezistivă la bornele calibratorului este mai mare de 100 kΩ,

(4) calibratorul a fost etalonat în cursul anului trecut.

Cum aceste condiții de măsurare sunt îndeplinite, iar evidența istorică a etalonărilor calibratorului indică faptul că se poate avea încredere în specificațiile fabricantului, corecția care trebuie aplicată tensiunii generate de calibrator se presupune a fi 0,0 V în limitele de ±0,011 V.

S9.9 Corelația

Nici una dintre mărimile de intrare nu se consideră a fi corelată într-o măsură semnificativă.

S9.10 Bugetul de incertitudine (E_X)

Mărimea X_i	Estimația x_I	Incertitudinea standard $u(x_i)$	Distribuția de probabilitate	Coeficientul de sensibilitate c_i	Contribuția la incertitudine $u_i(y)$
V_{iX}	100,1 V	-	-	-	-
V_S	100,0 V	0,001 V	normală	-1,0	-0,001 V
δV_{iX}	0,0 V	0,029 V	rectangulară	1,0	0,029 V
δV_S	0,0 V	0,0064 V	rectangulară	-1,0	-0,0064 V
E_X	0,1 V				0,030 V

[1] O metodă larg utilizată de prezentare a specificațiilor de exactitate ale instrumentelor în foi de catalog şi manuale constă în indicarea limitelor specificației în funcție de 'valoarea reglată'. Pentru calibrator, specificația ar fi ±(0,01% din valoarea reglată + 1 mV). Chiar dacă această metodă este considerată echivalentă cu expresia dată mai sus, nu este folosită aici deoarece ar putea fi derutantă în multe cazuri şi deoarece nu reprezintă o ecuație cu mărimi fizice din nomenclatorul simbolic internațional acceptat.

S9.11 Incertitudinea extinsă

Incertitudinea de măsurare standard asociată rezultatului este în mod clar dominată de efectul rezoluției finite a DMM. Distribuția finală nu este normală ci în esență rectangulară. Ca urmare, metoda bazată pe numărul de grade de libertate, descrisă în Anexa E a EAL R-2, nu este aplicabilă. Factorul de acoperire adecvat pentru o distribuție rectangulară se calculează cu relația dată în ecuația (S9.8) din nota matematică S9.14.

$$U = k \times u(E_X) = 1{,}65 \times 0{,}030 \text{ V} \cong 0{,}05 \text{ V}$$

S9.12 Raportarea rezultatului

Eroarea măsurată a indicației voltmetrului digital portabil la 100 V este (0,10 ± 0,05) V.

Incertitudinea de măsurare declarată este dată ca incertitudine de măsurare standard multiplicată cu factorul de acoperire k = 1,65, care a fost determinat din distribuția de probabilitate rectangulară presupusă pentru o probabilitate de acoperire de 95%.

S9.13 Remarcă suplimentară

Metoda utilizată pentru calcularea factorului de acoperire este în mod clar legată de faptul că incertitudinea de măsurare asociată cu rezultatul este dominată de efectul rezoluției finite a DMM. Aceasta este aplicabilă pentru etalonarea tuturor instrumentelor indicatoare cu rezoluție redusă, cu condiția ca rezoluția finită să fie singura sursă dominantă din bugetul de incertitudine.

S9.14 Notă matematică

Dacă, într-o măsurare, situația este de aşa fel încât una dintre contribuțiile la incertitudine din buget poate fi identificată ca termen dominant, de exemplu, termenul cu indicele 1, incertitudinea standard care trebuie asociată rezultatului măsurării y poate fi scrisă ca

$$u(y) = \sqrt{u_1^2(y) + u_R^2(y)} \qquad \text{(S9.2)}$$

în care

$$u_R(y) = \sqrt{\sum_{i=2}^{N} u_i^2(y)} \qquad \text{(S9.3)}$$

reprezintă contribuția totală la incertitudine a termenilor ne-dominanți. Atât timp cât raportul dintre contribuția totală la incertitudine $u_R(y)$ a tuturor termenilor ne-dominanți şi contribuția la incertitudine $u_1(y)$ a termenului dominant nu este mai mare de 0,3, ecuația (S9.2) poate fi aproximată prin

$$u(y) \cong u_1(y) \cdot \left[1 + \frac{1}{2} \left(\frac{u_R(y)}{u_1(y)} \right)^2 \right] \qquad \text{(S9.4)}$$

Eroarea relativă de aproximare este mai mică de 1×10^{-3}. Variația relativă maximă incertitudinii standard care rezultă din factorul dintre paranteze din ecuația (S9.4) nu depăşeşte 5%. Această valoare se încadrează în limitele de toleranță pentru rotunjirea valorilor de incertitudine.

În aceste ipoteze, distribuția de valori ce ar putea fi în mod rezonabil atribuită măsurandului este în esență identică cu distribuția rezultată pentru contribuția dominantă cunoscută. Din densitatea acestei distribuții, $\varphi(y)$ se poate determina probabilitatea de acoperire p, pentru orice valoare a incertitudinii de măsurare extinse U, cu relația integrală

$$p(U) = \int_{y-U}^{y+U} \varphi(y')\, dy' \qquad \text{(S9.5)}$$

Inversând această relație pentru o probabilitate de acoperire dată, se obține relația dintre incertitudinea de măsurare extinsă şi probabilitatea de acoperire $U = U(p)$ pentru densitatea distribuției date $\varphi(y)$. Folosind această relație, factorul de acoperire poate fi exprimat în final ca

$$k(p) = \frac{U(p)}{u(y)} \qquad \text{(S9.6)}$$

În cazul voltmetrului digital portabil, contribuția dominantă la incertitudine, care rezultă din rezoluția finită a indicației, este $u_{\delta V_X}(E_X) = 0{,}029$ V în timp ce contribuția dominantă la incertitudine a termenilor ne-dominanți este $u_R(E_X) = 0{,}0064$ V. Raportul relevant este $u_R(E_X) / u_{\delta V_X}(E_X) = 0{,}22$. Astfel, distribuția de valori rezultantă ce poate fi în mod rezonabil atribuită ca erori de indicație este în esență rectangulară. Probabilitatea de acoperire pentru o distribuție rectangulară este linear dependentă de incertitudinea de măsurare extinsă (a fiind semi-lărgimea distribuției rectangulare)

$$p = \frac{U}{a} \qquad \text{(S9.7)}$$

Calculând această relație pentru incertitudinea de măsurare extinsă U şi introducând rezultatul împreună cu expresia incertitudinii de măsurare standard corespunzătoare unei distribuții rectangulare conform ecuației (3.8) din EAL-R2, se obține în final relația

$$k(p) = p\sqrt{3} \qquad \text{(S9.8)}$$

Pentru o probabilitate de acoperire $p = 95$ % aplicabilă în EA, factorul de acoperire relevant este deci $k = 1{,}65$.

S10 ETALONAREA UNUI ŞUBLER

S10.1 Se etalonează un şubler din oțel folosind cale plan paralele de clasă I, din oțel, ca etaloane de lucru. Domeniul de măsurare al şublerului este 150 mm. Rezoluția de citire a şublerului este de 0,05 mm (diviziunea minimă a scării principale este 1 mm iar diviziunea scării vernierului este 1/20 mm). În cadrul etalonării, se folosesc câteva cale plan paralele cu lungimea nominală în domeniul (0,5 – 150) mm. Acestea sunt selectate în aşa fel încât punctele de măsurare sunt repartizate la intervale aproape egale (de exemplu, la 0 mm, 50 mm, 100 mm, 150 mm) dar dau valori diferite pe scara vernierului (de exemplu, 0,0 mm, 0,3 mm, 0,6 mm, 0,9 mm). Exemplul se referă la punctul de etalonare de 150 mm pentru măsurarea dimensiunilor exterioare. Înainte de etalonare se efectuează câteva verificări ale stării şublerului. Acestea includ dependența rezultatului măsurării de distanța la care se află obiectul măsurat față de rigla şublerului (eroarea Abbe), calitatea fețelor de măsurare ale fălcilor (planeitate, paralelism, perpendicularitate), şi funcționalitatea mecanismului de blocare.

S10.2 Eroarea indicației E_X a şublerului la temperatura de referință t_0 = 20 ºC se obține din relația:

$$E_X = l_{iX} - l_S + L_S \cdot \overline{\alpha} \cdot \Delta t + \delta l_{iX} + \delta l_M \qquad \text{(S10.1)}$$

unde:

- l_{iX} - indicația şublerului,
- l_S - lungimea calei plan paralele,
- L_S - lungimea nominală a calei plan paralele,
- $\overline{\alpha}$ - coeficientul mediu de dilatare termică al şublerului şi al calei plan paralele,
- Δt - diferența de temperatură dintre şubler şi cala plan paralelă,
- δl_{iX} - corecția datorită rezoluției finite a şublerului,
- δl_M - corecția datorită efectelor mecanice, cum ar fi forța aplicată pentru măsurare, erorile Abbe, erorile de planeitate şi de paralelism, erorile fețelor de măsurare.

S10.3 Etaloanele de lucru (l_S, L_S)

Lungimile calelor plan paralele de referință, utilizate ca etaloane de lucru, împreună cu incertitudinile de măsurare extinse asociate lor, sunt date în certificatul de etalonare. Acest certificat confirmă faptul că setul de cale îndeplineşte cerințele impuse calelor plan paralele de clasă I conform ISO 3650, adică lungimea centrală a calelor coincide cu lungimea nominală în limitele de ±0,8 µm. Pentru lungimile reale ale calelor se folosesc valorile lungimilor lor nominale, fără corecții, considerând limitele de toleranță ca limite superioară şi inferioară al domeniului de variație.

S10.4 Temperatura (Δt, $\bar{\alpha}$)

După un timp adecvat de stabilizare, temperatura şublerului şi cea a calei sunt egale în limitele de ±2 ºC. Coeficientul mediu de dilatare termică este de $11{,}5\times10^{-6}$ ºC^{-1}. (Incertitudinea coeficientului de dilatare termică şi cea a diferenței dintre coeficienții de dilatare termică nu a fost luată în considerare, influența acestora fiind considerată neglijabilă în cazul acesta. În conformitate cu EAL-R2 - S1, exemplul S4.)

S10.5 Rezoluția şublerului (δl_{iX})

Diviziunea scării vernierului este de 0,05 mm. Astfel, se estimează că variațiile datorate rezoluției finite au limite rectangulare de ±25 µm.

S10.6 Efectele mecanice (δl_M)

Aceste efecte include forța aplicată la măsurare, eroarea Abbe şi jocul dintre rigla şi falca mobilă. Alte efecte pot fi cauzate de faptul că fețele de măsurare ale fălcilor nu sunt complet plate, nici paralele una cu cealaltă şi nici perpendiculare pe riglă. Pentru a minimiza efortul, din variația totală, se consideră numai domeniul egal cu ±50 µm.

S10.7 Corelația

Nici una dintre mărimile de intrare nu se considera a fi corelată într-o măsură semnificativă.

S10.8 Măsurările (l_{iX})

Măsurarea se repetă de câteva ori fără să se detecteze vreo împrăştiere a observărilor. Astfel, incertitudinea datorată repetabilității nu are nici o contribuție. Rezultatul măsurării pentru cala plan paralelă de 150 mm este 150,10 mm.

S10.9 Bugetul de incertitudine (δl_X)

Mărimea X_i	Estimația x_I	Incertitudinea standard $u(x_i)$	Distribuția de probabilitate	Coeficientul de sensibilitate c_i	Contribuția la incertitudine $u_i(y)$
l_{iX}	150,10 mm	-	-	-	-
l_S	150,00 mm	0,46 µm	rectangulară	-1,0	-0,46 µm
Δt	0	1,15 K	rectangulară	1,7 µmK^{-1}	2,0 µm
δl_{iX}	0	15 µm	rectangulară	1,0	15 µm
δl_M	0	29 µm	rectangulară	1,0	29 µm
E_X	0,10 mm				33 µm

S10.10 Incertitudinea extinsă

Incertitudinea de măsurare asociată rezultatului este în mod clar dominată de efectul combinat al forței aplicate pentru măsurare şi rezoluției finite a vernierului. Distribuția finală nu este normală ci este în esență trapezoidală cu un raport β = 0,33 între semi-lărgimea regiunii de platou şi semi-lărgimea domeniului de variație. Ca urmare, metoda bazată pe numărul de grade de libertate descrisă în EAL-R2, Anexa E, nu este aplicabilă. Factorul de acoperire k = 1,83 adecvat pentru această distribuție trapezoidală de valori se calculează din ecuația (S10.10) din cadrul notei matematice S10.13. Astfel,

$$U = k \times u(E_X) = 1{,}83 \times 0{,}033 \text{ mm} \cong 0{,}06 \text{ mm}$$

S10.11 Raportarea rezultatului

În punctul de etalonare de 150 mm, eroarea de indicație a şublerului este (0,10 ± 0,06) mm. Incertitudinea de măsurare extinsă declarată este dată ca incertitudine standard multiplicată cu factorul de acoperire $k = 1\,83$, care a fost dedus din distribuția de probabilitate presupusă trapezoidală pentru o probabilitate de acoperire de 95 %.

S10.12 Remarcă suplimentară

Metoda folosită pentru calculul factorului de acoperire este în mod clar legată de faptul că incertitudinea de măsurare asociată rezultatului este dominată de două influențe: efectele mecanice şi rezoluția finită a scării vernierului. Astfel nu se mai justifică presupunerea că distribuția de probabilitate pentru mărimea de ieşire este normală, fiind aplicabile condițiile din EAL-R2, paragraful 5.6. În practică, probabilitățile şi densitățile de probabilitate pot fi determinate numai în limitele de 3 % - 5 % şi, în acest sens, distribuția este în esență trapezoidală, obținută prin convoluția celor două distribuții rectangulare asociate contribuțiilor dominante. Semi-lărgimile la baza şi la vârful trapezului simetric rezultat sunt de 75 µm şi, respectiv, de 25 µm. 95 % din aria trapezului este cuprinsă într-un interval de ±60 µm în jurul axei sale de simetrie, corespunzând la k = 1,83.

S10.13 Notă matematică

Dacă, într-o măsurare, situația este de aşa fel încât două contribuții la buget pot fi identificate ca termeni dominanți, se poate aplica metoda prezentată în S9.14, când cele două contribuții dominante, de exemplu, termenii cu indicii 1 şi 2, se combină intr-un singur termen. Incertitudinea standard care trebuie asociată rezultatului măsurării y poate fi scrisă în acest caz în forma

$$u(y) = \sqrt{u_0^2(y) + u_R^2(y)} \qquad \text{(S10.2)}$$

unde

$$u_0(y) = \sqrt{u_1^2(y) + u_2^2(y)} \qquad \text{(S10.3)}$$

desemnează contribuțiile celor doi termeni dominanți iar

$$u_R(y) = \sqrt{\sum_{i=3}^{N} u_i^2(y)} \qquad \text{(S10.4)}$$

contribuția totală la incertitudine a celorlalți termeni ne-dominanți. Dacă apar două contribuții dominante din distribuții rectangulare de valori, cu semi-lărgimile a_1 şi a_2, distribuția care rezultă din convoluția acestora este o distribuție trapezoidală simetrică

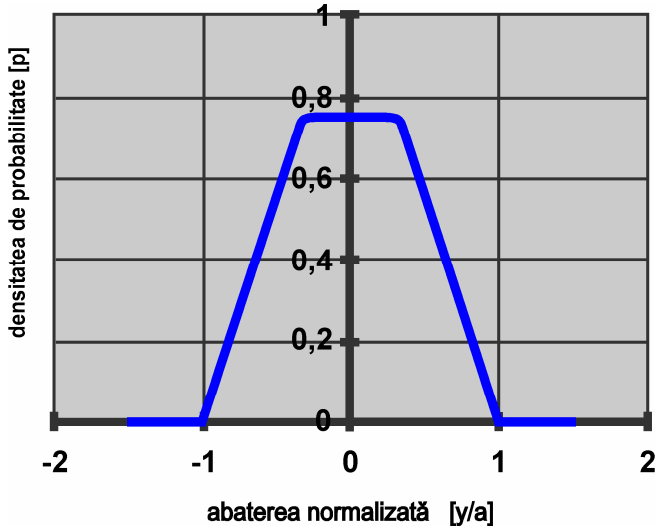


Fig. 1: Distribuție de probabilitate trapezoidală, unificată, simetrică, cu valoarea $\beta = 0{,}33$ a parametrului de margine, rezultat al convoluției a două distribuții rectangulare.

Cu semi-lărgimile

$$a = a_1 + a_2 \quad \text{şi} \quad b = |a_1 - a_2| \qquad \text{(S10.5)}$$

la bază şi, respectiv, la vârf a se vedea exemplul din Fig. 1). Distribuția poate fi scrisă în mod convenabil în forma unificată

$$\varphi(y) = \frac{1}{a(1+\beta)} \times \begin{cases} 1 & |y| < \beta \cdot a \\ \dfrac{1}{1-\beta}\left(1 - \dfrac{|y|}{a}\right) & \beta \cdot a \le |y| < a \\ 0 & a < |y| \end{cases} \qquad \text{(S10.6)}$$

cu parametrul de margine

$$\beta = \frac{b}{a} = \frac{|a_1 - a_2|}{a_1 + a_2} \qquad \text{(S10.7)}$$

Pătratul incertitudinii de măsurare standard dedusă din distribuția trapezoidală din ecuația (S10.6) este

$$u^2(y) = \frac{a^2}{6}(1+\beta^2) \qquad \text{(S10.8)}$$

Folosind distribuția din ecuația (S10.6), dependența factorului de acoperire de probabilitatea de acoperire se deduce conform metodei schițate în S9.14

$$k(p) = \frac{1}{\sqrt{\frac{1+\beta^2}{6}}} \times \begin{cases} \frac{p(1+\beta)}{2} & \frac{p}{2-p} < \beta \\ 1-\sqrt{(1-p)(1-\beta^2)} & \beta \le \frac{p}{2-p} \end{cases} \qquad \text{(S10.9)}$$

În figura 2 se arată dependența factorului de acoperire *k* de valoarea parametrului de margine *β* pentru o probabilitate de acoperire de 95 %.

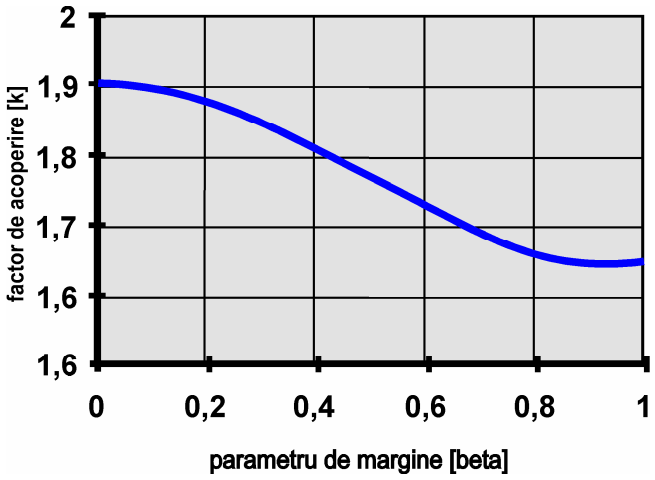


Fig. 2: Dependența factorului de acoperire *k* de valoarea parametrului de margine *β* al unei distribuții trapezoidale pentru o probabilitate de acoperire de 95 %.

Factorul de acoperire pentru o probabilitate de acoperire de 95 % adecvat pentru o distribuție trapezoidală cu un parametru de margine $\beta < 0{,}95$ se calculează cu relația

$$k = \frac{1-\sqrt{(1-p)(1-\beta)^2}}{\sqrt{\frac{1+\beta^2}{6}}} \qquad \text{(S10.10)}$$

S11 ETALONAREA UNUI BLOC ETALON DE TEMPERATURĂ LA TEMPERATURA DE 180°C [1]

S11.1 Se măsoară, ca parte a unei etalonări, temperatura care trebuie să fie atribuită canalului de măsurare al unui bloc etalon de temperatură. Această operație se execută atunci când indicatorul de temperatură incorporat s-a stabilizat la 180,0 ºC. Temperatura canalului de etalonare se determină cu ajutorul unui termometru cu rezistență din platină, utilizat cu rolul de etalon de lucru, prin măsurarea rezistenței electrice a termometrului cu o punte de rezistențe în curent alternativ. Temperatura t_X, care trebuie să fie atribuită ca temperatură a canalului de măsurare, atunci când indicatorul de temperatură incorporat arată 180,0 ºC, este dată de:

$$t_X = t_S + \delta t_S + \delta t_D - \delta t_{iX} + \delta t_R + \delta t_A + \delta t_H + \delta t_V \qquad \text{(S11.1)}$$

unde:

t_S - temperatura etalonului de lucru dedusă din măsurarea rezistenței în curent alternativ,

δt_S - corecția de temperatură datorită măsurării rezistenței în curent alternativ,

δt_D - corecția de temperatură datorită derivei în timp a etalonului de lucru de la ultima sa etalonare,

δt_{iX} - corecția de temperatură datorită limitărilor de ajustare ale blocului etalon de temperatură,

δt_R - corecția de temperatură datorită diferenței radiale de temperatură între termometrul incorporat şi etalonul de lucru,

δt_A - corecția de temperatură datorită neomogenității axiale a temperaturii în canalul de măsurare,

δt_H - corecția de temperatură datorită histerzisului pe ramurile crescătoare şi descrescătoare ale ciclului de măsurare,

δt_V - variația temperaturii în timpul măsurării.

Corecțiile de temperatură datorită conducției în tijă nu au fost luate în considerare, deoarece termometrul cu rezistență din platină folosit ca etalon de lucru are un diametru exterior $d \leq 6$ mm. Studii efectuate anterior au arătat că efectele de conducție în tijă pot fi neglijate în acest caz.

[1] Un exemplu similar va putea fi găsit în ghidul EA-10/xx, Calibration of temperature block calibrators (Etalonarea blocurilor etalon de temperatură – Nota trad.). Acesta a fost inclus aici, într-o formă simplificată, pentru a pune în evidență modul în care se atribuie o valoare unei indicații a unui instrument în cadrul unui proces de etalonare. Acest proces este esențial pentru etalonări în diverse domenii metrologice şi, ca urmare, de interes general. Exemplu mai demonstrează faptul că există două modalități de a trata această problemă: atribuirea directă a unei valori indicației instrumentului şi asocierea unei corecții pentru indicația respectivă, numită de obicei eroare a indicației.

S11.2 Etalonul de lucru (t_S)

Certificatul de etalonare al termometrului cu rezistență folosit ca etalon de lucru dă relația dintre rezistență şi temperatură. Valoarea măsurată a rezistenței corespunde unei temperaturi de 180,1 ºC, cu o incertitudine de măsurare extinsă asociată U = 30 mK (factor de acoperire k = 2).

S11.3 Determinarea temperaturii prin măsurarea rezistenței (δt_S)

Temperatura rezistenței termometrului folosit ca etalon de lucru este determinată ca fiind 180,1 ºC. Incertitudinea de măsurare standard asociată cu măsurarea rezistenței convertită în temperatură corespunde la $u(\delta t_S)$ = 10 mK.

S11.4 Deriva în timp a temperaturii etalonului de lucru (δt_D)

Din experiența generală cu termometrele cu rezistență din platină de tipul folosit ca etalon de lucru în cadrul măsurării, modificarea temperaturii datorită îmbătrânirii, în perioada de la ultima etalonare a etalonului se estimează a fi în limitele de ±40 mK.

S11.5 Limitările de ajustare ale blocului etalon de temperatură (δt_{iX})

Termometrul de control incorporat în blocul etalon de temperatură are diviziunea scării de 0,1 K. Aceasta determină limite de rezoluție pentru temperatură de ±50 mK, între care se poate stabili în mod unic starea termodinamică a blocului etalon de temperatură.

Notă: Dacă indicatorul de temperatură incorporat nu indică în unități de temperatură, limitele pentru rezoluție trebuie să fie convertite în valori echivalente de temperatură prin înmulțirea indicației cu constanta relevantă a instrumentului.

S11.6 Neomogenitatea radială a temperaturii (δt_R)

Diferența radială de temperatură între canalul de măsurare şi termometrul incorporat a fost estimată a se încadra între limitele de ±100 mK.

S11.7 Neomogenitatea axială a temperaturii (δt_A)

Variația temperaturii datorită neomogenității axiale a temperaturii în canalul de măsurare a fost estimată pe baza citirilor la diferite adâncimi de inserție a fi între limitele ±250 mK.

S11.8 Efectele de histerzis (δt_H)

Pe baza citirilor termometrului de referință în cursul creşterilor şi descreşterilor temperaturii în cadrul ciclurilor de măsurare, variația temperaturii în canalul de măsurare datorită efectului de histerezis a fost estimată a fi între limitele de ±50 mK.

S11.9 Instabilitatea temperaturii (δt_V)

Variațiile temperaturii datorită instabilității temperaturii în cursul ciclului de măsurare de 30 min. se estimează a fi între limitele de ±30 mK.

S11.10 Corelațiile

Nici una dintre mărimile de intrare nu se consideră a fi corelată într-o măsură semnificativă.

S11.11 Observațiile repetate

Datorită rezoluției finite a indicației termometrului incorporat, nu s-a observat şi nu s-a luat în considerare nici o împrăştiere a valorilor indicate.

S11.12 Bugetul de incertitudine (t_X)

Mărimea X_i	Estimația x_I	Incertitudinea standard $u(x_i)$	Distribuția de probabilitate	Coeficientul de sensibilitate C_i	Contribuția la incertitudine $u_i(y)$
t_S	180,1 ºC	15 mK	normală	1,0	15 mK
δt_S	0,0 ºC	10 mK	normală	1,0	10 mK
δt_D	0,0 ºC	23 mK	rectangulară	1,0	23 mK
δt_{iX}	0,0 ºC	29 mK	rectangulară	-1,0	-29 mK
δt_R	0,0 ºC	58 mK	rectangulară	1,0	58 mK
δt_A	0,0 ºC	144 mK	rectangulară	1,0	144 mK
δt_H	0,0 ºC	29 mK	rectangulară	1,0	29 mK
δt_V	0,0 ºC	17 mK	rectangulară	1,0	17 mK
t_X	180,1 ºC				164 mK

S11.13 Incertitudinea extinsă

Incertitudinea de măsurare standard asociată rezultatului măsurării este în mod clar dominată de efectul corecției necunoscute datorată neomogenității axiale a temperaturii în canalul de măsurare şi de diferența radială de temperatură între termometrul incorporat şi etalonul de lucru. Distribuția finală nu este normală ci în esență trapezoidală. În conformitate cu S10.13, factorul de acoperire corespunzător parametrului de margine $\beta = 0{,}43$ este $k = 1{,}81$.

$$U = k \times u(t_X) = 1{,}81 \times 164 \text{ mK} \cong 0{,}3 \text{ K}$$

S11.14 Raportarea rezultatului

Temperatura canalului de etalonare care trebuie să fie atribuită indicației unui termometru de control incorporat la 180 ºC este 180,1 ºC ± 0,3 ºC.

Incertitudinea de măsurare extinsă este declarată ca incertitudine de măsurare standard înmulțită cu factorul de acoperire k = 1,81, care a fost determinat pe baza distribuției de probabilitate presupusă trapezoidală pentru o probabilitate de acoperire de 95 %.

S11.15 Notă matematică privind modelul

Unii metrologi sunt derutați de faptul că indicația termometrului de control nu apare în mod explicit în funcția de modelare din ecuația (S11.1). Pentru a le veni în ajutor, problema poate fi formulată, alternativ, în funcție de eroarea indicației

$$E_X = t_X - t_i \qquad \text{(S11.2)}$$

a indicatorului de temperatură incorporat

$$E_X = t_X - t_i + \delta t_S + \delta t_D - \delta t_{iX} + \delta t_R + \delta t_A + \delta t_H + \delta t_V \qquad \text{(S11.3)}$$

Valoarea indicată t_i este o valoare nominală. Efectul acesteia este de translatare a scării măsurandului. Aceasta, totuşi, nu contribuie la incertitudinea de măsurare asociată erorii indicației

$$u(E_X) = u(t_X) \qquad \text{(S11.4)}$$

Funcția de modelare din ecuația (S11.1) se poate re-obține din ecuația (S11.3) folosind definiția erorii indicației din ecuația (S11.2).

Această notă arată că nu există neapărat un mod unic de alegere a modelului de evaluare a măsurării. Metrologul are libertatea de a alege modelul care se potriveşte cel mai bine cu obişnuințele sale şi cu modul său de abordare a problemei. Funcțiile de modelare care se pot transforma prin procedee matematice una în cealaltă reprezintă acelaşi proces de măsurare. Pentru situațiile în care apare o scară continuă de indicații, cum este cazul etalonării blocului etalon de temperatură considerat, funcțiile de modelare care sunt legate prin transformări de scara liniare pot servi ca expresii echivalente ale problemei de măsurare.

S12 ETALONAREA UNUI CONTOR DE APĂ DE UZ CASNIC

S12.1 Etalonarea unui contor de apă presupune determinarea erorii relative a indicației în domeniul de debite aplicabil contorului. Măsurarea se face utilizând o instalație de încercare care furnizează debitul de apă necesar la o presiune de aproximativ 500 kPa, o valoare tipică pentru o rețea municipală de alimentare cu apă. Apa este colectată într-un rezervor de colectare deschis care a fost etalonat şi determină volumul de apă de referință. La începutul măsurării, rezervorul de colectare este gol dar umezit. Rezervorul de colectare este prevăzut cu o ieşitură îngustă, la care este ataşată o scară şi cu care se poate detecta nivelul de umplere. Contorul

care urmează să fie etalonat este conectat între aceste rezervoare. Acesta este prevăzut cu un numărător mecanic cu ace indicatoare. Măsurarea se face la un debit de 2500 l/h cu start şi stop static, ceea ce înseamnă că debitul este zero atât la începutul cât şi la sfârşitul măsurării. Indicația contorului este înregistrată la începutul şi la sfârşitul măsurării. Nivelul este înregistrat în rezervorul de colectare la sfârşitul măsurării. Se înregistrează de asemenea temperatura şi presiunea apei în contor şi temperatura apei din rezervorul de colectare.

S12.2 Eroarea relativă a indicației e_X, la o singură trecere, este definită ca

$$e_X = \frac{\Delta V_{iX} + \delta V_{iX2} - \delta V_{iX1}}{V_X} - 1 \qquad \text{(S12.1)}$$

cu

$$V_X = (V_{iS} + \delta V_{iS})\big(1 + \alpha_S(t_S - t_0)\big)\big(1 + \alpha_W(t_X - t_S)\big)\big(1 - \kappa_W(p_X - p_S)\big) \qquad \text{(S12.2)}$$

unde:

$\Delta V_{iX} = V_{iX2} - V_{iX1}$	-	diferența dintre indicațiile contorului,
V_{iX1}, V_{iX2}	-	indicația contorului la începutul măsurării şi la sfârşitul măsurării,
δV_{iX1}, δV_{iX2}	-	corecțiile datorită rezoluției finite a indicației contorului,
V_X	-	volumul care a trecut prin contor în timpul măsurării în condițiile determinante, adică, presiunea p_X şi temperatura t_X, la intrarea în contor,
V_{iS}	-	volumul indicat pe scara ataşată rezervorul de colectare la sfârşitul măsurării,
δV_{iS}	-	corecția pentru volumul indicat pe scara rezervorului de colectare datorită rezoluției finite a scării,
α_S	-	coeficientul de dilatare în volum al materialului din care este confecționat rezervorul de colectare,
t_S	-	temperatura rezervorului de colectare,
t_0	-	temperatura de referință la care a fost etalonat rezervorul de colectare,
α_W	-	coeficientul de dilatare în volum al apei,
t_X	-	temperatura apei la intrarea în contor,
κ_W	-	coeficientul de compresibilitate al apei,
p_S	-	presiunea in rezervorul de colectare (este zero dacă se ia în considerare suprapresiunea)
p_X	-	presiunea apei la intrarea în contor.

S12.3 Rezervorul de colectare (V_{iS}, t_0)

Conform certificatului de etalonare, scara ataşată porțiunii îngustate a rezervorului indică volumul de 200 l la temperatura de referință t_0 = 20 ºC, cu o incertitudine de măsurare relativă extinsă de 0,1 % (k = 2). Incertitudinea rare extinsă asociată valorii este 0,2 l (k = 2).

S12.4 Rezoluția scării rezervorului de colectare (δV_{iS})

Nivelul apei din rezervorul de colectare poate fi determinat în limitele de ±1 mm. Având factorul de scară al rezervorului de 0,02 l/mm, abaterea maximă a volumului de apă din rezervorul de colectare față de valoarea indicată observată este estimată a fi între limitele de ±0,02 l.

S12.5 Temperatura apei şi rezervorul de colectare (α_S, t_S)

Temperatura apei din rezervorul de colectare este determinată ca fiind 15 ºC în limitele de ±2 K. Aceste limite declarate acoperă toate sursele posibile de incertitudine, cum ar fi etalonarea traductoarelor de temperatură, rezoluția de citire şi gradientele de temperatură din rezervor. Coeficientul de dilatare termică în volum al materialului rezervorului (oțel) este preluat din dintr-un manual referitor la constantele de material, fiind o constantă egală cu $\alpha_S = 51\times10^{-6}$ K^{-1}, în intervalul de temperaturi considerat. Cum nu există nici o incertitudine declarată care să însoțească această valoare, se presupune că este cunoscută până la nivelul cifrei celei mai puțin semnificative. Abaterile necunoscute se presupune că se încadrează în limitele de rotunjire de $\pm0{,}5\times10^{-6}$ K^{-1}.

S12.6 Temperatura apei în contor (α_W, t_X)

Temperatura apei la intrarea în contor este determinată ca fiind 16 ºC în limitele de ±2 K. Limitele declarate acoperă toate sursele posibile de incertitudine, cum ar fi contribuțiile de la etalonarea traductoarelor, rezoluția de citire şi variațiile mici de temperatură în timpul efectuării unei măsurări. Coeficientul de dilatare în volum al apei este preluat dintr-un manual referitor la constantele de material, fiind o constantă egală cu $\alpha_W = 0{,}15\times10^{-3}$ K^{-1}, în intervalul de temperaturi considerat. Cum nu există nici o incertitudine declarată care să însoțească această valoare, se presupune că este cunoscută până la nivelul cifrei celei mai puțin semnificative. Abaterile necunoscute se presupune că se încadrează în limitele de rotunjire de $\pm0{,}5\times10^{-6}$ K^{-1}.

S12.7 Diferența de presiune a apei între contor şi rezervor (κ_W, p_S, p_X)

Suprapresiunea apei aplicată la intrarea în contor este de 500 kPa, cu abateri relative nu mai mari de ±10 %. În drumul său de la intrarea în contor până la rezervorul de colectare, apa se decomprimă până la valoarea suprapresiunii de 0 kPa (valoarea presiunii atmosferice). Coeficientul de compresibilitate al apei este preluat dintr-un manual referitor la constantele de material, fiind o constantă egală cu $\kappa_W = 0{,}46\times10^{-6}$ kPa^{-1}, în intervalul de temperaturi considerat. Cum nu există nici o incertitudine declarată care să însoțească această valoare, se presupune că este cunoscută până la nivelul

cifrei celei mai puțin semnificative. Abaterile necunoscute se presupune că se încadrează în limitele de rotunjire de $\pm 0{,}005 \times 10^{-6}\ K^{-1}$.

S12.8 Corelația

Nici una dintre mărimile de intrare nu se consideră a fi corelată într-o măsură semnificativă.

S12.9 Bugetul de incertitudine (V_X)

Mărimea X_i	Estimația x_i	Incertitudinea standard $u(x_i)$	Distribuția de probabilitate	Coeficientul de sensibilitate c_i	Contribuția la incertitudine $u_i(y)$
V_{iS}	200,02 l	0,10 l	normală	1,0	0,10 l
δV_{iS}	0,0 l	0,0115 l	rectangulară	1,0	0,0115 l
α_S	$51 \times 10^{-6}\ K^{-1}$	$0{,}29 \times 10^{-6}\ K^{-1}$	rectangulară	-1000 l×K	$-0{,}29 \times 10^{-3}$ l
t_S	15 ºC	1,15 K	rectangulară	$-0{,}0198$ l×K^{-1}	-0,0228 l
α_W	$0{,}15 \times 10^{-3}\ K^{-1}$	$2{,}9 \times 10^{-6}\ K^{-1}$	rectangulară	200 l×K	$0{,}58 \times 10^{-3}$ l
t_X	16 ºC	1,15 K	rectangulară	$-0{,}0300$ l×K^{-1}	-0,0346 l
κ_W	$0{,}46 \times 10^{-6}\ kPa^{-1}$	$2{,}9 \times 10^{-6}\ kPa^{-1}$	rectangulară	-100 l×kPa	$-0{,}29 \times 10^{-3}$ l
p_X	500 kPa	29 kPa	rectangulară	$-9{,}2 \times 10^{-6}$ l×kPa^{-1}	-0,0027 l
p_S	0,0 Pa	-	-	-	-
V_X	199,95 l				0,109 l

Incertitudinea de măsurare standard asociată rezultatului este în mod clar dominată de indicația de volum de pe scara rezervorului de colectare. Distribuția finală nu este normală ci în esență rectangulară. Acest lucru trebuie avut în vedere în prelucrarea în continuare a informației în cadrul evaluării incertitudinii.

S12.10 Indicația contorului (ΔV_{iX}, δV_{iX1}, δV_{iX2})

Contorul de apă supus etalonării are o rezoluție de 0,2 l, ceea ce determină limite de ±0,1 l pentru abaterile rezultate din rezoluția contorului, la ambele citiri.

S12.11 Bugetul de incertitudine (e_X)

Mărimea X_i	Estimația x_I	Incertitudinea standard $u(x_i)$	Distribuția de probabilitate	Coeficientul de sensibilitate c_i	Contribuția la incertitudine $u_i(y)$
ΔV_{iX}	200,0 l	-	nominală	-	-
$\delta V_{iX}1$	0,0 l	0,058 l	rectangulară	$-5{,}0\times10^{-3}$	$-0{,}29\times10^{-3}$ l
$\delta V_{iX}2$	0,0 l	0,058 l	rectangulară	$5{,}0\times10^{-3}$	$0{,}29\times10^{-3}$ l
V_X	199,95 l	0,109 l	rectangulară	$-5{,}0\times10^{-3}$	$-0{,}55\times10^{-3}$ l
e_X	0,000 3				$0{,}68\times10^{-3}$

S12.12 Repetabilitatea contorului

Eroarea relativă a indicației contorului supus etalonării, determinată la aceeaşi valoare a debitului de 2500 l/h, prezintă o împrăştiere considerabilă. Din acest motiv, eroarea relativă a indicației este determinată de trei ori. Rezultatele acestor trei treceri sunt tratate ca observații independente e_{Xj} în modelul cu ajutorul căruia se determină eroarea media a indicației $e_{X\,av}$:

$$e_{X\,av} = e_X + \delta e_X \qquad \text{(S12.3)}$$

unde:

e_X - eroarea relativă a indicației la o trecere,

δe_X - corecția erorii relative a indicației se obține în mai multe treceri datorită lipsei repetabilității contorului.

S12.13 Măsurările (e_X)

Nr.	Eroarea relativă a indicației observate
1	0,000 3
2	0,000 5
3	0.002 2

Media aritmetică: $\bar{e}_X = 0{,}001$

Abaterea standard experimentală: $s(e_{Xj}) = 0{,}001$

Incertitudinea standard: $u(\bar{e}_X) = s(\bar{e}_X) = \dfrac{0{,}001}{\sqrt{3}} = 0{,}000\,60$

S12.14 Bugetul de incertitudine ($e_{X\,av}$)

Mărimea X_i	Estimația x_I	Incertitudinea standard $u(x_i)$	Numărul gradelor de libertate ν_{ef}	Distribuția de probabilitate	Coeficientul de sensibilitate c_i	Contribuția la incertitudine $u_i(y)$
e_X	0,001	$0{,}60\times10^{-3}$	2	normală	1,0	$0{,}60\times10^{-3}$
δe_X	0,0	$0{,}68\times10^{-3}$	∞	normală	1,0	$0{,}68\times10^{-3}$
$e_{X\,av}$	0,001		10			$0{,}91\times10^{-3}$

S12.15 Incertitudinea extinsă

Din cauza numărului mic de grade efective de libertate al incertitudinii standard asociate eroarea relativă medie a indicației, factorul de acoperire standard trebuie să fie modificat conform Tabelului E1

$$U = k\times u(e_{X\,av}) = 2{,}28\times0{,}91\times10^{-3} \cong 2 \times 10^{-3}$$

S12.16 Raportarea rezultatului

Eroarea relativă medie a indicației contorului de apă determinată la un debit de 2500 l/h este de 0,001 ± 0,002.

Incertitudinea de măsurare extinsă declarată este dată ca incertitudine de măsurare standard înmulțită cu factorul de acoperire k = 2,28, care, pentru o distribuție t cu ν_{ef} = 10 grade efective de libertate, corespunde unei probabilități de acoperire de aproximativ 95 %.

S13 ETALONAREA UNUI CALIBRU ETALON DE TIP INEL CU DIAMETRUL NOMINAL DE 90 mm

S13.1 Se etalonează un calibru etalon de tip inel, din oțel, cu diametrul interior nominal D_x = 90 mm, aplicând procedura descrisă în EAL-G29. Se folosesc un comparator de lungimi de tip Abbe şi un inel calibrat din oțel al cărui diametru interior nominal (D_s = 40 mm) diferă semnificativ de cel al inelului supus etalonării. În acest caz, atât comparatorul de lungimi cât şi inelul calibrat din oțel au rolul de etaloane de lucru. Inelele sunt prinse cu grijă, pe rând pe o masă cu 4 grade de libertate, care include toate elementele de poziționare pentru alinierea pieselor de încercare. Contactul cu inelele se realizează în câteva puncte diametral opuse, cu ajutorul a două brațe în formă de C, fixate pe suport şi, respectiv, pe axul de măsurare. Brațele în formă de C sunt prevăzute cu vârfuri de contact sferice. Forța de măsurare este generată de către o greutate de tensionare, care asigură o forță constantă cu valoarea nominală de 1,5 N pe tot domeniul de măsurare. Axul de măsurare este conectat rigid la capul de măsură al unei rigle gradate din oțel cu rezoluția de 0,1 µm. Rigla gradată a comparatorului a fost verificată

periodic pentru a se încadra în specificațiile fabricantului în ce priveşte eroarea maximă tolerată.

Temperatura ambiantă este monitorizată pentru a menține condițiile de mediu specificate în procedura de etalonare. Temperatura în volumul de lucru al comparatorului este menținută la 20 ºC în limitele de ±0,5 K. Se acordă atenție menținerii temperaturii monitorizate a inelelor şi a riglei gradate pe toată durata etalonării.

S13.2 Diametrul d_X inelului supus etalonării la temperatura de referință t_0 = 20 ºC se obține din relația:

$$\underline{d}_X = d_S + \Delta l + \delta l_i + \delta l_T + \delta l_P + \delta l_E + \delta l_A \qquad \text{(S13.1)}$$

unde:

- $\underline{d}_S$ - diametrul inelului calibrat de referință la temperatura de referință,
- Δl - diferența observată în deplasarea axului de măsurare atunci când vârfurile de contact ating suprafața interioară a inelelor în două puncte diametral opuse,
- δl_i - corecția pentru erorile de indicație ale comparatorului,
- δl_T - corecția datorită efectelor temperaturii asupra inelului supus etalonării, a inelului calibrat şi a riglei gradate a comparatorului,
- δl_P - corecția datorită nealinierii coaxiale a capetelor de măsurare față de axa de măsurare,
- δl_E - corecția datorită diferențelor de deformare elastică dintre inelul supus etalonării şi inelul calibrat de referință,
- δl_A - corecția datorită diferenței dintre erorile Abbe ale comparatorului atunci când se măsoară inelul supus etalonării şi inelul calibrat de referință.

S13.3 Etalonul de lucru (d_S)

Diametrul interior al inelului calibrat utilizat ca etalon de lucru împreună cu incertitudinea de măsurare extinsă asociată este dată în certificatul de etalonare ca fiind 40,0007 mm ± 0,2 µm (factor de acoperire k = 2).

S13.4 Comparatorul (δl_i)

Corecțiile datorită erorilor de indicație ale riglei gradate au fost determinate de fabricant şi stocate electronic în prealabil. Orice alte erori reziduale sunt în limitele specificațiilor fabricantului de ± (0,3 µm + $1{,}5\times10^{-6}\times\cdot l_i$) unde l_i este lungimea indicată. Specificațiile sunt confirmate prin verificări periodice. Pentru diferența existentă $D_X - D_S$ = 50 mm erorile reziduale necunoscute se estimează a fi între limitele ± (0,375) µm.

S13.5 Corecțiile de temperatură (δl_T)

Pe toată durata măsurării, se acordă atenție menținerii inelului supus etalonării, inelului calibrat şi riglei gradate a comparatorului la temperatura monitorizată. Pe baza măsurărilor anterioare şi a experienței generale de lucru cu sistemul de măsurare, se poate considera că abaterile de la temperatura ambiantă ale temperaturilor inelului supus etalonării, a inelului calibrat şi a riglei gradate a comparatorului se încadrează între ±0,2 K. Temperatura ambiantă din încăperea în care se fac măsurările se estimează totuşi a fi In limitele de ±0,5 K. Cunoaşterea măsurării este, deci, cel mai bine descrisă de abaterea temperaturii ambiante față de temperatura de referință şi abaterile temperaturilor inelului supus etalonării, inelului calibrat şi riglei gradate a comparatorului față de temperatura ambiantă. Corecția δl_T datorită influențelor de temperatură este determinată din modelul:

$$\delta l_T = (D_S \times (\alpha_S - \alpha_R) - D_X \times (\alpha_X - \alpha_X)) \times \Delta t_A + \\ + D_S \times \alpha_S \times \delta t_S - D_X \times \alpha_X \times \delta t_X - (D_S - D_X) \times \alpha_R \times \delta t_R \qquad \text{(S13.2)}$$

unde:

D_X, D_S - diametrele nominale ale inelului supus etalonării şi inelului calibrat de referință,

α_X, α_S, α_R - coeficienții de dilatare liniară ai inelului supus etalonării, inelului calibrat de referință şi riglei gradate a comparatorului,

$\Delta t = t_A - t_0$ - abaterile temperaturii ambiante ale încăperii în care se fac măsurările de la temperatura de referință t_0 = 20 ºC,

δt_X, δt_S, δt_R - abaterile temperaturilor inelului supus etalonării, inelului calibrat de referință şi riglei gradate a comparatorului de la temperatura ambiantă.

Cum mediile statistice ale celor patru diferențe de temperatură care intră în ecuația (S13.2) sunt zero, forma linearizată uzuală nu va include efecte ale incertitudinii de măsurare asociate cu valorile celor trei coeficienți de dilatare liniară. Aşa cum s-a arătat în secțiunea S4.13, trebuie să fie folosită forma neliniară pentru a determina incertitudinea standard asociată cu cei patru termeni produs:

$$\begin{aligned} \delta l_{TA} &= (D_S \times (\alpha_S - \alpha_R) - D_X \times (\alpha_X - \alpha_X)) \times \Delta t_A \\ \delta l_{TS} &= D_S \times \alpha_S \times \delta t_S \\ \delta l_{TX} &= D_X \times \alpha_X \times \delta t_X \\ \delta l_{TR} &= (D_S - D_X) \times \alpha_R \times \delta t_R \end{aligned} \qquad \text{(S13.3)}$$

Pe baza certificatului de etalonare al inelului calibrat, a datelor furnizate de fabricant despre inelul supus etalonării şi a riglei gradate a comparatorului, coeficienții de dilatare termică liniară se presupune că au valori în intervalul $(11{,}5 \pm 1{,}0)\ 10^{-6}\ K^{-1}$. Folosind această valoare şi limitele de variație a

temperaturii stabilite la început, incertitudinile standard asociate cu cei patru termeni produs sunt $u(\delta l_{TA})$ = 0,12 µm, $u(\delta l_{TS})$ = 0,053 µm, $u(\delta l_{TX})$ = 0,12 µm şi $u(\delta l_{TR})$ = 0,066 µm. Incertitudinea standard asociată cu corecţiile combinate de temperatură se determină pe baza acestor valori cu ajutorul următorului sub-buget de incertitudine:

Mărimea X_i	Estimaţia x_i	Incertitudinea standard $u(x_i)$	Distribuţia de probabilitate	Coeficientul de sensibilitate c_i	Contribuţia la incertitudine $u_i(y)$
δl_{TA}	0,0 µm	0,012 µm	-	1,0	0,012 µm
δl_{TS}	0,0 µm	0,053 µm	-	1,0	0,053 µm
δl_{TX}	0,0 µm	0,12 µm	-	1,0	0,12 µm
δl_{TR}	0,0 µm	0,066 µm	-	1,0	0,066 µm
δl_T	0,0 µm				0,15 µm

S13.6 Corecţia de coaxialitate (δl_P)

Abaterea de la coaxialitate cu axa de măsurare a celor două vârfuri de contact sferice se presupune a fi în limitele de ±20 µm. Pe baza ecuaţiilor date în nota matematică (S13.13), corecţia datorită ne-coaxialităţii posibile şi incertitudinea de măsurare standard asociată este dată de

$$\delta l_P = 2 \times \left(\frac{1}{D_X^2} + \frac{1}{D_S^2} \right) \times u^2(\delta c) \qquad \text{(S13.4)}$$

$$u^2(\delta l_P) = \frac{16}{5} \times \left(\frac{1}{D_X^2} + \frac{1}{D_S^2} \right) \times u^4(\delta c) \qquad \text{(S13.5)}$$

Aici δc este distanţa mică de la coarda de măsurare la centrul inelului. Valorile care rezultă pentru corecţie şi incertitudinea de măsurare standard sunt $\delta l_P \cong$ -0,004 µm şi $u(\delta l_P) \cong$ 0,0065 µm. Aşa după cum se poate observa din bugetul de incertitudine (S13.10), aceste valori sunt cu două ordine de mărime mai mici decât celelalte contribuţii la incertitudine, aşa încât influenţa acestora nu este necesar să fie luată în considerare în condiţiile de măsurare considerate.

S13.7 Corecţia datorită deformării elastice (δl_E)

Deformarea elastică a inelului care trebuie etalonat sau a inelului calibrat de referinţă nu se determină în cadrul măsurării curente. Totuşi, din experienţa anterioară, efectele determinate de deformările elastice se estimează a fi în limitele de ± 0,03 µm.

S13.8 Corecția datorită erorii Abbe ($\delta/_A$)

În cadrul actualului experiment nu se determină valorile pe care le au erorile Abbe ale comparatorului. Totuşi, pe baza experienței şi a datelor de la verificările periodice ale comparatorului, efectele datorate erorilor Abbe se estimează a fi în limitele ± 0,02 µm.

S13.9 Măsurările (Δl)

S-au făcut următoarele observări ale diametrului interior al inelului necunoscut şi cel al inelului calibrat:

Nr.	Obiect	Observarea	Măsurandul
1	Inel calibrat de referință	0 în această etapă, indicația comparatorului este adusă la zero	Diametrul în direcția nominală a planului de simetrie ortogonal față de axa cilindrului
2	Inel supus etalonării	49,99935 mm	Diametrul în direcția nominală a planului de simetrie ortogonal față de axa cilindrului
3	Inel supus etalonării	49,99911 mm	Diametrul în planul de simetrie ortogonal față de axa cilindrului rotită în jurul axei cu +1 mm pe circumferință față de direcția nominală
4	Inel supus etalonării	49,99972 mm	Diametrul în planul de simetrie ortogonal față de axa cilindrului rotită în jurul axei cu -1 pe circumferință față de direcția nominală.
5	Inel supus etalonării	49,99954 mm	Diametrul în direcția nominală, în planul translatat cu 1 mm în sus, paralel cu planul de simetrie ortogonal față de axa cilindrului
6	Inel supus etalonării	49,99996 mm	Diametrul în direcția nominală, în planul translatat cu 1 mm în jos, paralel cu planul de simetrie ortogonal față de axa cilindrului

Observările pot fi împărțite în două grupe: observările diametrului inelului calibrat (observarea nr. 1) care este folosită pentru aducerea indicației comparatorului la zero şi observarea diametrului inelului supus etalonării (observările nr. 2 până la nr. 6) care dau diferența între diametre:

Media aritmetică: $\overline{\Delta l} = 49{,}999\ 54$ mm

Abaterea standard a unei singure observări: $s(\Delta l) = 0{,}33$ µm

Abaterea standard a mediei: $s(\overline{\Delta l}) = \dfrac{s(\Delta l)}{\sqrt{5}} = 0{,}15$ µm

Abaterea standard a unei singure observări s(Δ*l*) = 0,18 µm ia în considerare efectele datorate abaterilor inelului care se etalonează, precum şi cele datorate repetabilității comparatorului. Pentru a obține incertitudinea de măsurare standard asociată mediei diferenței observate dintre diametre, trebuie să se ia în considerare şi incertitudinea rezultată din aducerea la zero a indicației comparatorului. Aceasta se deduce din estimația globală[1] a abaterii standard $s_p(0) = 0{,}25$ µm, obținută într-o măsurare anterioară, efectuată în aceleaşi condiții de măsurare. Incertitudinea de măsurare standard rezultantă ce trebuie asociată cu diferența de diametru observată este:

$$u(\Delta l) = \sqrt{s^2(\overline{\Delta l}) + s_p^2(0)} = 0{,}30\ \mu\text{m}$$

S13.10 Bugetul de incertitudine (d_X)

Mărimea X_i	Estimația x_i	Incertitudinea standard $u(x_i)$	Distribuția de probabilitate	Coeficientul de sensibilitate c_i	Contribuția la incertitudine $u_i(y)$
d_S	40,000 7 mm	0,10 µm	normală	1,0	0,10 µm
Δl	49,999 55 mm	0,30 µm	normală	1,0	0,30 µm
δl_l	0,0 mm	0,22 µm	rectangulară	1,0	0,22 µm
δl_T	0,0 mm	0,15 µm	normală	1,0	0,15 µm
δl_P	0,000 004 mm	0,0065 µm	rectangulară	1,0	0,0065 µm
δl_E	0,0 mm	0,018 µm	rectangulară	1,0	0,018 µm
δl_A	0,0 mm	0,012 µm	rectangulară	1,0	0,012 µm
d_X	90,000 25 mm				0,433 µm

S13.11 Incertitudinea extinsă

$$U = k \times u(d_X) = 2 \times 0{,}433\ \mu\text{m} \cong 0{,}9\ \mu\text{m}$$

[1] În limba Engleză *pooled estimate* (Nota trad.)

S13.12 Raportarea rezultatului

Diametrul calibrului de tip inel este (90,000 3 ± 0,000 9) mm.

Incertitudinea de măsurare extinsă declarată este dată ca incertitudine de măsurare standard înmulțită cu factorul de acoperire $k = 2$, care, pentru o distribuție normală, corespunde unei probabilități de acoperire de aproximativ 95%.

S13.13 Notă matematică referitoare la non-coaxialitate

Cum nu este posibil să se realizeze o ajustare exactă a inelelor față de axa de măsurare a comparatorului, mărimea care se determină în cadrul măsurării este o coardă a inelului respectiv din proximitatea diametrului. Lungimea *d'* a acestei coarde, care este obiect al observării în cadrul experimentului, este dependentă de diametrul inelului *d* conform relației:

$$d' = d \times \cos(\delta\varphi) \cong d \times \left(1 - \frac{1}{2}(\delta\varphi)^2\right) \qquad \text{(S13.6)}$$

unde $\delta\varphi$ este unghiul mic care completează la $\pi/2$ jumătatea unghiului la centru al coardei. Pe de altă parte, acest unghi depinde de mica distanță δc dintre coardă şi centrul inelului conform relației:

$$\delta c = \frac{1}{2} \times d \times \sin(\delta\varphi) \cong \frac{1}{2} \times d \times \delta\varphi \qquad \text{(S13.7)}$$

astfel încât ecuația (S13.6) poate fi re-scrisă în forma:

$$d' \cong d - 2\frac{(\delta c)^2}{D} \qquad \text{(S13.8)}$$

în care diametrul *d* al inelului din raport a fost înlocuit cu diametrul său nominal *D* deoarece numărătorul fracției este deja o cantitate mică. Cea mai bună estimație a diametrului se obține considerând media statistică (valoarea aşteptată) ca fiind:

$$d = d' + 2\frac{u^2(\delta c)}{D} \qquad \text{(S13.9)}$$

Aici s-a luat în considerare faptul că distanța mică δc are media statistică zero. Trebuie de asemenea să se rețină faptul că semnificațiile pe care le au *d*, *d'* şi δc în ecuația (S13.8) şi în ecuația (S13.9) nu sunt identice; în timp ce, în ecuația (S13.8), aceste simboluri reprezintă mărimi care nu sunt exact cunoscute sau variabile aleatoare, în ecuația (S13.9), acestea semnifică mediile statistice ale acestor mărimi. Cum varianța unei variabile aleatoare este egală cu media statistică a pătratului abaterii sale de la valoarea mediei statistice respective, pătratul incertitudinii de măsurare standard ce trebuie asociată diametrului inelului este, conform ecuației (S13.8),

$$u^2(d) = u^2(d') + 4 \times (\alpha - 1)\frac{u^4(\delta c)}{D^2} \qquad \text{(S13.10)}$$

în care

$$\alpha = \frac{m_4(\delta c)}{m_2^2(\delta c)} \qquad \text{(S13.11)}$$

este raportul dintre momentul centrat de ordinul 4 şi pătratul momentului centrat de ordinul 2 al distanței mici δc. Acest raport depinde de distribuția presupusă pentru δc. Acesta are valoarea $\alpha = 9 / 5$ dacă se presupune că δc este distribuită rectangular, astfel că, în acest caz, incertitudinea de măsurare standard ce trebuie asociată diametrului este dată de expresia

$$u^2(d) = u^2(d') + \frac{16}{5} \times \frac{u^4(\delta c)}{D^2} \qquad \text{(S13.12)}$$

3. ERORI DE MĂSURARE

3.1. Definirea erorii de masurare

În practica, se observa ca întotdeauna valoarea numerica reala X a unei marimi fizice masurate este diferita de valoarea X_m indicata de aparatul de masurat. Aceasta eroare, care apare în procesul de masurare, se numeste *eroare de masurare* si se noteaza în general prin ΔX.

$$\Delta X = X_m - X \tag{3.1}$$

Valoarea adevarata a unei marimi este imposibil de determinat, deoarece orice masurare este practic afectata, mai mult sau mai putin, de erori, datorate imperfectiunii mijloacelor de masurare, conditiilor de mediu, unor perturbatii exterioare, operatorului etc. În practica se accepta în locul valorii adevarate o valoare determinata cu o incertitudine suficient de mica, denumita *valoare conventional adevarata*. De aici rezulta importanta cunoasterii, pentru o masurare efectuata în anumite conditii si cu anumite mijloace de masurare, *erorii maxime* care poate fi comisa.

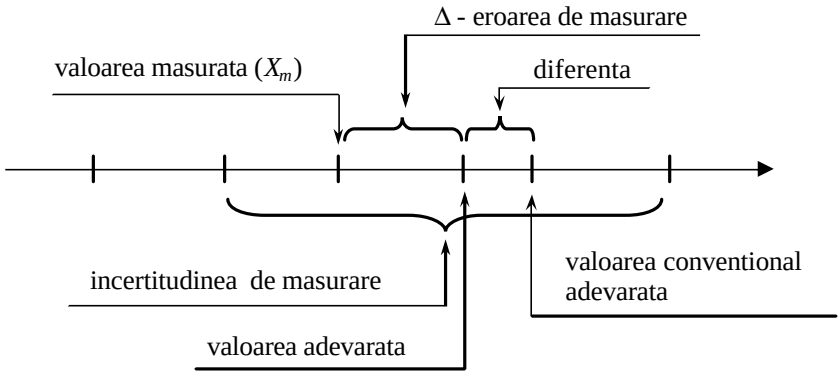


Fig. 3.1. Cu privire la eroarea de masurare.

Prin **incertitudine de masurare** se întelege intervalul în care se estimeaza, cu o anumita probabilitate, ca se afla valoarea adevarata a masurandului. Precizarea acesteia face utilizabil sau nu rezultatul masurarii. De exemplu, o prelucrare mecanica cunoscuta cu o

incertitudine de ± 0,1 mm este inutila daca ea s-a cerut initial sa fie de ±0,01 mm. În lipsa acestor precizari, rezultatul poate sa nu prezinte interes practic în utilizare.

3.2. Clasificarea erorilor de masurare

Pentru a determina erorile care afecteaza rezultatul masurarii, precum si factorii care le produc, trebuie sa se tina seama ca:

- mijlocul electric de masurare masoara o marime care este implicata în fenomenul supus masurarii împreuna cu alte marimi;
- aceasta marime trebuie corect definita;
- masurarea se desfasoara într-un mediu ambiant;
- rezultatul masurarii are un beneficiar.

În figura 3.2 sunt evidentiate principalele elemente care sunt prezente în procesul de masurare si erorile pot fi clasificate dupa provenienta lor în erori datorate:

- fenomenului supus masurarii;
- interactiunii mijloc de masurare-fenomen supus masurarii;
- mijlocului electric;
- interactiunii beneficiarului masurarii-mijloc de masurare.

În figura 3.2 x este marimea de masurat, q'_k, q''_k sunt marimile de influenta prezente în fenomenul supus masurarii, respectiv în mediul ambiant corespunzator mijlocului de masurare, iar y este valoarea masurata obtinuta de la mijlocul de masurare de catre beneficiarul masurarii.

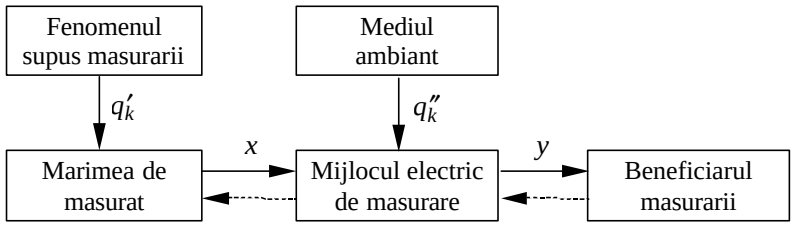


Fig. 3.2. Principalele surse de erori în procesul de masurare

Erorile de model sunt datorate fenomenului supus masurarii si ele provin din simplificarea sistemului fizic asupra caruia se efectueaza masurarea neglijându-se unele proprietati sau marimi fizice caracteristice acestuia.

Erorile de influenta reprezinta erorile introduse de factorii de mediu care pot influenta marimea de masurat. Exemplu: umiditatea mediului ambiant la masurarea grosimii hârtiei cu grosimetre electrice capacitive.

Erorile instrumentale reprezinta erorile proprii ale mijloacelor electrice de masurare fiind cuprinse, de regula, între limitele cunoscute în functie de modul de definire a preciziei, precum si erorile suplimentare datorita marimilor de influenta, de exemplu: temperatura, câmpurile electromagnetice, umiditatea etc.

Erorile de interactiune dintre mijlocul electric de masurare si fenomenul supus masurarii sunt cauzate de actiuni electromagnetice sau mecanice exercitate de mijlocul de masurare asupra fenomenului supus masurarii si reciproc.

Erorile de interactiune dintre beneficiarul masurarii si mijlocul electric de masurare sunt cauzate de neasigurarea de catre beneficiar a conditiilor nominale de utilizare a mijlocului electric de masurare.

Dupa modul cum sunt exprimate, erorile pot fi: *absolute, relative* si *raportate*:

1. *Eroarea absoluta* este diferenta dintre valoarea masurata si valoarea adevarata a marimii masurate:

$$\Delta X = X - X_e \tag{3.2}$$

Eroarea absoluta are aceleasi dimensiuni fizice ca si marimea masurata si se exprima în aceleasi unitati de masura. Eroarea absoluta cu semn schimbat se numeste *corectie.*

2. *Eroarea relativa* este raportul dintre eroarea absoluta si valoarea marimii masurate:

$$\varepsilon = \frac{\Delta X}{X_e} = \frac{X - X_e}{X_e} \tag{3.3}$$

3. *Eroarea raportata* este raportul dintre eroarea absoluta si domeniul de masurare.

$$\varepsilon_r = \frac{\Delta X}{X_{\max} - X_{\min}} = \frac{X - X_e}{X_{\max} - X_{\min}} \tag{3.4}$$

unde: $X_{\max}$ – limita superioara de masurare; $X_{\min}$ – limita inferioara de masurare.

Eroarea relativa si cea raportata sunt marimi adimensionala si se exprima ca un numar, în procente sau în parti pe milion [unitate de masura anglo-saxona] (de exemplu $5 \cdot 10^{-4}$, 0.05% sau 500 ppM).

Valoarea masurata se prezinta împreuna cu eroarea de masurare exprimata în aceleasi unitati sau sub forma de eroare relativa pentru a se putea aprecia precizia masurarii. De exemplu, pentru exprimarea valorii tensiunii masurate sunt acceptate urmatoarele prezentari:

$$U_x(V) \pm \Delta U_x \quad si \quad U_x(V) \pm \varepsilon_x(\%) \tag{3.5}$$

Dupa regimului marimii de masurat erorile pot fi *statice* sau *dinamice*:

1. *Eroarea statica* reprezinta eroarea de masurare care rezulta la un regim stationar constant al marimii de masurat.
2. *Eroarea dinamica* este eroarea de masurare care rezulta la un regim variabil al marimii de masurat. Erorile dinamice depind atât de caracteristicile mijloacelor si metodelor de masurare utilizate cât si de natura variatiilor marimii de masurat.

Dupa caracterul aparitiei în masurarile repetate, erorile de masurare se clasifica în trei tipuri de erori:

1. ***Erori sistematice*** **–** sunt acele erori care nu variaza la repetarea masurarii în aceleasi conditii sau variaza în mod determinabil odata cu modificarea conditiilor de masurare. Ele se datoreaza unor cauze bine determinate, se produc întotdeauna în acelasi sens, au valoare constanta în marime si semn sau variabila dupa o lege bine determinata si pot fi eliminate prin aplicarea unor corectii. Erorile sistematice pot fi la rândul lor obiective si subiective:

a) erori sistematice obiective:

- *erori de aparat* (instrumentale), datorate unor caracteristici constructive ale aparatelor, incorectei etalonari, uzurii. Limitele lor de variatie sunt cunoscute din specificatiile tehnice date de

furnizorul aparatului si sunt, prin urmare, cel mai usor de evaluat de catre operator;

- *erori de metoda*, aparute ca urmare a principiilor pe care se bazeaza metoda de masurare, a introducerii unor simplificari sau utilizarii unor relatii empirice. Ele apar mai ales la metodele indirecte de masurare;
- *erori produse de factori externi* (erori de influenta), deosebit de greu de evaluat prin calcule, deoarece nu întotdeauna pot fi cunoscute cauzele si legile de variatie în timp a conditiilor de mediu (temperatura, presiunea, umiditatea, câmpuri magnetice, radiatii etc.). Pentru eliminarea lor se impune asigurarea conditiilor de mediu cerute de producator pentru instalatia de masurat.

b) erori sistematice subiective (de operator), provenind din modul subiectiv în care operatorul apreciaza anumite efecte (coincidente de repere la citirea rezultatelor, intensitati luminoase etc.) si care tin de gradul sau de oboseala, de starea sa psihica sau de anumite deficiente ale organelor de perceptie.

2. ***Erori aleatoare*** (întâmplatoare) sunt erorile care au valori si semne diferite într-o succesiune de masuratori efectuate în aceleasi conditii. Ele nu sunt controlabile si pot proveni din fluctuatiile accidentale ale conditiilor de mediu, ale atentiei operatorului uman, sau ale dispozitivului de masurare.

3. ***Erori grosolane*** (greseli) constau în abateri foarte mari, cu probabilitate mica de aparitie si care produc denaturari puternice ale rezultatelor masuratorilor. Aceste erori sunt introduse prin alegerea gresita a metodei sau a mijloacelor de masurare, neatentiei în timpul masurarii, calculelor eronate etc.

Alte categorii de erori ale instrumentelor de masura:

- **eroarea de fidelitate** – caracterizeaza exactitatea cu care se obtin o serie de indicatii concordante, masurând aceeasi marime, repetat, la anumite intervale de timp;
- **eroarea de citire** (la instrumentele analogice) – consta în aprecierea gresita a pozitiei indicatorului;
- **eroarea de mobilitate** – este cea mai mica modificare a marimii de masurat care se poate observa cu certitudine (mobilitatea fiind

calitatea unui instrument de a-si modifica pozitia sistemului mobil la o variatie cât mai mica a marimii);

- **eroarea de histerezis** – consta în producerea de indicatii diferite ale instrumentului în functie de modul de variatie al marimii: valori crescatoare sau descrescatoare, cu variatie rapida sau lenta;
- **eroarea de zero** – incorecta definire a pozitiei initiale dintre indicator si originea scalei pe care se face citirea rezultatului masurarii, în absenta marimii de masurat, ceea ce va conduce la un decalaj permanent între valoarea indicata si cea adevarata;
- **eroarea de justete** – este diferenta dintre valoarea mediei aritmetice X_0 a unui sir de masuratori si valoarea sa adevarata X_a.

3.3. Prelucrarea datelor experimentale

Utilizarea metodelor grafo-analitice reprezinta o modalitate simpla de prezentare a datelor experimentale. Pentru interpretarea mai comoda a rezultatelor obtinute din masuratori se prefera reprezentarea grafica sub forma de **histograma.**

Daca presupunem ca într-un sir de n masuratori s-au obtinut valorile limita $X_{m\,\max}$ si $X_{m\,\min}$, lungimea intervalului de grupare d se calculeaza cu formula lui Sturges:

$$d = \frac{X_{m\,\max} - X_{m\,\min}}{1 + 3{,}22 \cdot \log n} \tag{3.6}$$

Pentru a întocmi o histograma se procedeaza în modul urmator:

- se întocmeste tabelul de date primare;
- se ordoneaza în sens crescator valorile din tabelul precedent si, pe baza formulei lui Sturges, se stabilesc intervalele de grupare;
- se calculeaza pentru fiecare interval de grupare valoarea centrala sau medie;
- se determina numarul de date n_i corespunzator unei clase; numarul de masurari n_i pentru care se obtin valori cuprinse într-un interval de grupare se numeste *frecventa absoluta*;
- se calculeaza frecventa relativa ca raport al frecventei absolute n_i si al numarului total de masurari n:

$$f_i = \frac{n_i}{n} \tag{3.7}$$

Daca se construieste o diagrama formata din dreptunghiuri având baza egala cu intervalul de grupare, iar înaltimea proportionala cu frecventa (absoluta sau relativa), se obtine o **histograma** (figura 3.3).

Unind prin segmente de dreapta (care formeaza o linie frânta) mijloacele superioare ale dreptunghiurilor histogramei, se obtine **poligonul de frecventa**.

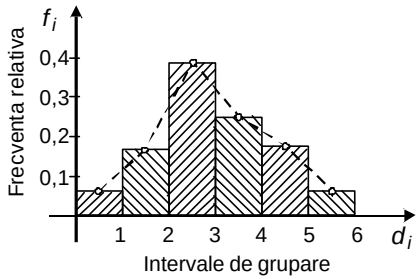


Fig. 3.3. Histograma si polinomul frecventelor relative.

3.3.1. Indicatori statistici utilizati la prelucrarea datelor experimentale

Pentru prelucrarea statistica a masuratorilor efectuate, se folosesc niste valori tipice de selectie, numite **indicatori statistici**. Cei mai importanti sunt:

A) Indicatori de localizare (de pozitie)

media aritmetica: efectuând un sir de n masuratori asupra unei marimi fizice X, în aceleasi conditii experimentale, se obtin valorile X_{m1}, X_{m2}, …, X_{mn}, Media aritmetica se determina cu formula:

$$\overline{X} = \frac{X_{m1} + X_{m2} + ... + X_{mn}}{n} = \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^{n} X_{mi} \tag{3.8}$$

Este deosebit de importanta în estimarea preciziei masuratorilor, deoarece prin proprietatile sale, deseori se adopta ca marime de referinta. Se poate demonstra ca în cazul unui sir foarte mare de masuratori ($n \to \infty$), valoarea medie $\overline{X}$ tinde catre valoarea reala a marimii masurate.

media geometrica:

$$G = \sqrt[n]{X_{m1} \cdot X_{m2} \cdot ... \cdot X_{mn}} = \sqrt[n]{\prod_{i=1}^{n} X_{mi}} \tag{3.9}$$

media patratica:

$$X_p^2 = \frac{1}{n} \cdot \left(X_{m1}^2 + X_{m2}^2 + ... + X_{mn}^2 \right) \tag{3.10}$$

sau $$X_p = \sqrt{\frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^{n} X_{mi}^2} \tag{3.11}$$

media armonica:

$$H = \frac{1}{\frac{1}{X_{m1}} + \frac{1}{X_{m2}} + ... \frac{1}{X_{mn}}} = \frac{1}{\sum_{i=1}^{n} \frac{1}{X_{mi}}} \tag{3.12}$$

mediana M_e se defineste ca valoare a variabilei care împarte sirul rezultatelor, dispuse în ordine crescatoare, în doua parti egale. Daca sirul are un numar impar de termeni, mediana se ia ca valoarea de ordin $(n+1)/2$. Daca sirul este par, mediana se ia egala cu media aritmetica a valorilor centrale.

moda sau **dominanta** M_0 se defineste ca valoarea careia îi corespunde frecventa maxima de masuratori într-un sir de determinari. Daca sirul de masuratori are doua valori maxime, repartitia se numeste bimodala, iar daca sunt mai multe, plurimodala.

Între media aritmetica, mediana si moda exista urmatoarele relatii:

$$M_e = \frac{M_0 + 2\overline{X}}{3}; \quad M_0 = 3M_e - 2\overline{X}; \quad \overline{X} = \frac{3M_e - M_0}{2}. \tag{3.13}$$

B) Indicatori de dispersie

amplitudinea de dispersie, care arata domeniul de variatie a marimii studiate**:**

$$w = X_{m\max} - X_{m\min} \tag{3.14}$$

abaterea:

$$d_i = X_{mi} - \overline{X} \tag{3.15}$$

abaterea medie patratica:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}\left(X_{mi} - \overline{X}\right)^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n} d_i^2}{n-1}} \tag{3.16}$$

dispersia de selectie S^2:

$$S^2 = \frac{\left(X_{m1} - \overline{X}\right)^2 + \left(X_{m2} - \overline{X}\right)^2 + ... + \left(X_{mn} - \overline{X}\right)^2}{n-1} = \\ = \frac{\sum_{i=1}^{n}\left(X_{mi} - \overline{X}\right)^2}{n-1} \tag{3.17}$$

3.3.2. Repartitia normala (Gauss) a rezultatelor experimentale

Prin numeroasele aplicatii practice, aceasta repartitie are o deosebita importanta în metrologie. Cu ajutorul ei se pot analiza:

- un sir de masuratori, strict în aceleasi conditii experimentale, efectuate asupra aceleiasi marimi *X*;
- rezultatele unor masuratori asupra unei colectivitati de obiecte caracterizate printr-o anumita proprietate, pentru determinarea unei caracteristici a acesteia.

Pentru distributia Gauss, densitatea de probabilitate de repartitie a rezultatelor, considerate ca variabile aleatoare, se scrie :

$$f\left(X_m\right) = \frac{1}{S\sqrt{2\pi}} \cdot e^{-\frac{\left(X_m - \overline{X}\right)^2}{2S^2}} \tag{3.18}$$

pentru: $$-\infty < X_m - \overline{X} < +\infty \tag{3.19}$$

unde: $\overline{X}$ este media aritmetica a masuratorilor; S – abaterea medie patratica.

În figura 3.4 se prezinta aspectul graficului functiei distributiei de probabilitate, reprezentând pe axa absciselor diferenta, iar pe axa ordonatelor valorile acestei functii, conform relatiei (3.18).

Se poate observa ca:

$$f_{\max}\left(X_m - \overline{X}\right) = \frac{1}{S\sqrt{2\pi}} \quad \text{(prin derivare în raport cu } X_m\text{)} \tag{3.20}$$

exista doua puncte de inflexiune simetrice:

$$f\left(X_m = \overline{X} \pm S\right) = 0{,}606 \cdot f_{\max}\left(X_m\right) \tag{3.21}$$

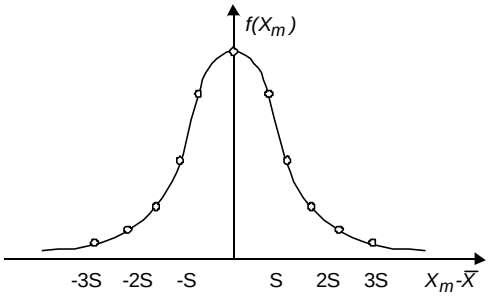


Fig. 3.4. Curba de repartitie Gauss a densitatii de probabilitate de distributie a rezultatelor masuratorilor.

Proprietati ale curbei Gauss:

- pentru un numar suficient de mare de masurari, riguros în aceleasi conditii experimentale, valorile marimii masurate se distribuie simetric fata de media aritmetica $\overline{X}$;
- functia densitatii de probabilitate este neglijabila pentru valori ale variabilei X_m care difera de media aritmetica cu mai mult de 3S;
- aria delimitata de curba si de axa absciselor este 1 pentru toate valorile X si S;
- $f(X_m)>0$ si $f(-X_m) = f(X_m)$ – deci graficul este simetric fata de axa ordonatelor;
- curba are forma de clopot (clopotul lui Gauss) si are doua puncte de inflexiune în punctele:

$$X_m - \overline{X} = -S \tag{3.22}$$

$$X_m + \overline{X} = +S \tag{3.23}$$

- forma curbei este conditionata de dispersia rezultatelor masuratorilor (fig.3.5): $S_1<S_2<S_3$

Probabilitatea ca eroarea absoluta sa se afle între doua limite ε_1 si ε_2 este :

$$P(\varepsilon_1 < \Delta X < \varepsilon_2) = \frac{1}{S\sqrt{2\pi}} \int_{\varepsilon_1}^{\varepsilon_2} e^{-\frac{(\Delta X)^2}{2S^2}} \cdot d(\Delta X) \qquad (3.24)$$

$$\Delta X = X_m - \overline{X} \qquad (3.25)$$

Grafic, aceasta probabilitate este reprezentata de aria delimitata de curba Gauss, axa absciselor si ordonate în punctele ε_1 si ε_2 (figura 3.5).

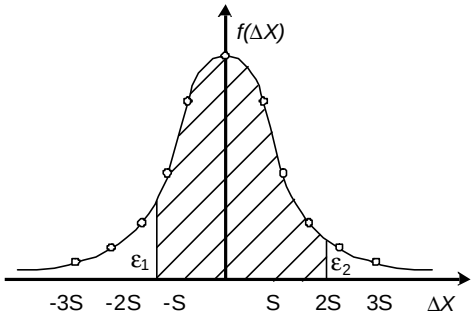


Fig. 3.5. Curba de repartitie Gauss a densitatii de probabilitate de distributie a erorilor accidentale.

Pe lânga repartitia normala (Gauss), se utilizeaza – în analiza sau prezentarea valorilor marimilor masurate – si alte repartitii: Repartitia normala Laplase; Repartitia *t* (Student); Repartitia χ^2 (hi-patrat); Repartitia Weibull (fig. 3.6); Repartitia rectangulara s.a.

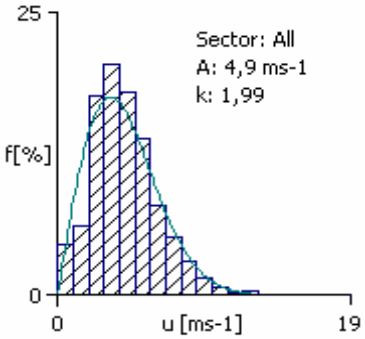


Fig. 3.6. Curba de repartitie Weibull a repetitivitatii vitezei vântului pe gradatii de viteza (aplicatie WAsP).

ASOCIAȚIA DE ACREDITARE DIN ROMÂNIA
ORGANISMUL NAȚIONAL DE ACREDITARE

INSTRUCTIUNEA PENTRU VALIDAREA METODELOR UTILIZATE ÎN LABORATOARELE DE ANALIZE MEDICALE

RENAR Cod: **I-12**

Ediția 1
Revizia: 0
DATA: 10.2007

Exemplar nr.

Pag.1 din 9

APROBAT:

Director General RENAR
drd. ing. Cristian Dorin NICHITA

ELABORAT:

Comitetul Laboratoare Medicale
Coordonator
Dr. Nicolae Poll

VERIFICAT:

Manager Calitate
ing. Daniela Ionescu

Reproducerea integrală sau parțială a prezentei proceduri în orice publicații şi prin orice procedeu (electronic, mecanic, fotocopiere, microfilme, etc.), este interzisă dacă nu există acordul scris al RENAR

CUPRINS

1. DOMENIU DE APLICARE
2. DOCUMENTE DE REFERINȚĂ
3. DEFINIȚII
4. DESCRIEREA ACTIVITĂȚII
5. MODIFICĂRI FAȚĂ DE VERSIUNEA ANTERIOARĂ

1. DOMENIU DE APLICARE

Prezentul document are rol de instrucțiune pentru validarea metodelor în laboratoarele de analize medicale, în vederea satisfacerii cerinței 5.4.5. Validarea metodelor din SR EN ISO/CEI 17025:2005; SR EN ISO 15189:2005 cu privire la metodele utilizate în laborator de analize medicale.
Acest ghid stabileste directii minime cu privire la modul de validare si la parametrii de performanta care trebuie evaluati în vederea validării medodelor utilizate de laboratoarele de analize medicale.
Un laborator poate să considere ca relevenți pentru scopurile proprii si sa evaleze si alti parametri decat cei prezentati mai jos.

2. DOCUMENTE DE REFERINȚĂ

2.1. Ghidul EURACHEM - The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics

2.2. SR EN ISO/CEI 17025:2005 - Criterii generale pentru competența laboratoarelor de încercări şi etalonare.

2.3. SR EN ISO 15189:2005 Cerințe particulare pentru calitate şi competență

3. DEFINIȚII

3.1. Validarea (SR EN ISO/CEI 17025:2005) - confirmarea prin examinare si furnizarea de dovezi obiective ca sunt indeplinite cerintele pentru utilizarea intentionala.

3.2. Validarea metodei (Ghidul EURACHEM - The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics)

1. procesul prin care laboratorul isi stabileste caracteristicile de perfomanta si limitele metodei si prin care identifica factorii care influenteaza aceste caracteristici precum si gradul de influenta al acestor factori

2. procesul prin care laboratorul verifica daca metoda este adecvata scopului in care va fil utilizata

4. DESCRIEREA ACTIVITĂȚII

4.1. CONDITIILE IN CARE TREBUIE SA SE VALIDEZE METODELE

4.1.1. Când se realizează validarea metodei

Un laborator trebuie sa valideze o metoda de lucru atunci cand este necesar sa se stabilesca daca parametrii de performanta ai acesteia sunt adecvati pentru rezolvarea problemelor analitice urmarite, cum ar fi:

- atunci cand laboratorul introduce in lucru o metoda pe care nu a mai utilizat-o in trecut
- atunci cand trebuie implementate imbunatatiri ale metodei ca urmare a introducerii de imbunatatiri de catre producatorul reactivulului, a schimbarii echipamentului, a schimbarii producatorului reactivilor etc.
- atunci cand metoda este extinsa pentru a fi utilizata si pentru un alt scop decat cel de pana in prezent (ex. extinderea utilizarii metodei de determinarea a glucozei din ser la urina)
- atunci cand rezultatele controlului de calitate indica o modificare a performantelor metodei

4.1.2. Stabilirea gradului de extindere al validării

Gradul de extindere al validarii trebuie sa tina cont de:
- relevanta parametrilor evaluati pentru utilizarea intentionala (ex. pentru determinari de biochimie poate fi relevanta determinarea limitelor de detectie ale metodei)
- relevanta parametrilor evaluati pentru a satisface cerintele clientului
- natura modificarilor aduse atunci cand se implementate imbunatatiri ale metodei
- natura diferentelor atunci cand se compara metode diferite, echipamente diferite etc.

Chiar si atunci cand se introduc in lucru metode standardizate sau publicate in literatura de specialitate este necesara o validare pentru a stabili modul in care laboratorul reuseste sa obtina performanta indicata in referential (standard, literatura, specificatiile producatorului date in prospectul de lucru etc.)

Validarea trebuie sa fie un echilibru intre costuri, riscuri si posibilitati tehnice.

4.1.3. Condițiile tehnice în care se realizează validarea metodei

Validarea metodei trebuie să se realizeze în următoarele condiții:

1) Responsabilul de validare trebuie sa fie o persoana competenta

2) Conditiile de mediu cerute de specificatiile metode (ex. specificatiile date de producatorul echipamentului, reactivilor, literatura de specialitate) trebuie sa fie satisfacute

3) Echipamentul de măsurare trebuie sa fie in buna stare de functionare, trebuie sa fie etalonat inainte de validare (cand este cazul) si calibrat corespunzator

4) Reactivii utilizati sunt adecvati lucrului cu echipamentul care urmeaza a fi utilizat si sunt in termen de valabilitate

5) Materialele de referinta utilizate in procesul de validare trebuie sa fie adecvate metodei care urmeaza a fi validate (ex. tabelele de valori ale concentratiilor analitilor serului de control intern au valori specifice analizorului si principiului chimic ce urmeaza a fi utilizate) si trebuie sa fie in termen de valabilitate

4.1.4. Parametrii validării

Informatiile folosite pentru a valida metoda pot fi obtinute prin testari in laborator sau din alte surse (informatii date de producatorul reactivilor/echipamentului, literatura de specialitate, standarde de metode etc.)

Pot fi evaluati, in functie scopul validarii, următorii parametrii:
- limita minima de detectie
- limitele domeniului de masurare
- precizia (repetabilitate/reproductibilitate)
- acuratete (exactitate)
- incertitudinea de măsurare
- robustetea metodei
- sensibilitatea
- specificitatea

Modalități de evaluare a unor parametri de performanță:

4.1.4.1. Limita minima de detectie - L_D - cea mai mica valoare (concentratie, cantitate, etc) care poate fi detectata
Aceasta limita se poate considera L_D = 0 + 3SD al probei pentru care concentratia este egala cu limita minima de cuantificare (vezi mai jos)

4.1.4.2. Limitele de măsurare
Limitele de măsurare sunt :

a) Limita minima de cuantificare – cea mai mica concentratie de analit, diferita de zero, care poate fi determinata cu un nivel acceptabil al repetabilitatii si al exactității

Aceasta limita se determina prin testarea mai multor probe preparate cu concentratii mici (ex. dilutii diferite ale unui ser de calibrare), apropiate de limita minima de masurare specificata de producatorul kitului de reactivi. Fiecare proba este testata de minim 10 ori si se calculeaza pentru fiecare valoarea medie si abaterea standard.
Se considera ca limita minima de masurare proba cu cea mai mica concentratie si pentru care abaterea standard are o valoare acceptabila.

Observații:

1. Daca limita minima a curbei de calibrare este mai mare decat limita minima de masurare, atunci trebuie acordata atentie modului in care se realizeaza extrapolarea. In acest caz, daca se utilizeaza un analizor automat, atunci limita minima de cuantificare pe care o poate obtine laboratorul este data de limita minima a curbei de calibrare.

2. Daca limita minima a curbei de calibrare este data de valoarea 0 a concentratiei, atunci limita minima de masurare a analitului va fi foarte probabil mai mare decat 0 si trebuie determinata de laborator ca mai sus, daca aceasta limita este relevanta din punct de vedere clinic (exemplu: este relevant sa se cunoasca limita minima de detectie in cazul markerilor de diagnostic post operator cum sunt markerii tumorali sau markerii de rejectie a transplantului)

3. Pentru determinarile calitative, limita minima de detectie este de exemplu valoarea «cut-off», care este indicata in prospectul kitului de reactiv

b) Limita maximă de măsurare – cea mai mare concentratie de analit care poate fi determinata fara dilua proba

Observații :

1) In cazul in care curba de calibrare a analizorului este liniara, atunci limita maxima de masurare este egala cu limita de liniaritate (specificata de producatorul kit-ului reactivi).
2) In cazul in care curba de calibrare nu este liniara (ex. determinari imunologice), atunci atunci trebuie acordata atentie modului in care se realizeaza extrapolarea. In acest caz, daca se utilizeaza un analizor automat, atunci limita maxima de masurare pe care o poate obtine laboratorul este data de limita maxima a curbei de calibrare.

Notă:
Laboratorul trebuie sa arate ca domeniul sau de masurare include domeniul de referinta biologic (domeniul de valori normale) si acopera valorile patologice

corespunzatoare populatiei de pacienti care se adreseaza laboratorului in mod obisnuit.

4.1.4.3. Precizie (fidelitate)

Laboratorul trebuie sa stabileasca repetabilitatea si reproductibilitatea pe materiale de referinta (pentru controlul intern) cu valori cunoscute ale concentratiei analitilor si pe probe de pacienti - atat probe cu valori normale, cat si probe cu valori patologice

a) Pentru stabilirea **repetabilitatii (precizia intra-determinare)**: laboratorul masoara mai multe replici ale unei pool de seruri sau material de referință, una dupa alta, in aceleasi conditii, cu acelasi echipament, reactivi, operator, intr-un interval de timp foarte scurt si va estima abaterea standard.

Abaterea standard obtinuta de laborator trebuie sa fie mai mica sau egala cu cea specificata de producatorul kitului de reactivi sau al echipamentului (daca aceasta informatie este disponibila)

b) Pentru stabilirea **reproductibilitatii (precizia inter-determinari = repetabilitate interdeterminari)** - laboratorul masoara mai multe replici ale unui pool de seruri sau material de referință, in aceleasi conditii, cu acelasi echipament, reactivi, operator, in zile diferite si va estima abaterea standard

Abaterea standard obtinuta de laborator trebuie sa fie mai mica sau egala decat cea specificata de producatorul kitului de reactivi sau al echipamentului (daca aceasta informatie este disponibila) si decat cea specificata de producatorul materialului de referinta utilizat.

4.1.4.4. Exactitate

Laboratorul trebuie sa stabileasca acuratetea (exactitatea) pe materiale de referinta (pentru controlul intern) cu valori cunoscute ale concentratiei analitilor, atat pe probe cu valori normale, cat si pe probe cu valori patologice

a) Bias-ul (%) (deplasarea): laboratorul masoara mai multe replici ale materialului de referinta, in aceleasi conditii, cu acelasi echipament, reactivi, operator, in zile diferite si va estima valoarea medie.

Bias = 100 x (Valoarea medie obtinuta de laborator – Valoarea tinta a materialului de referinta)/ valoarea tinta a materialului de referinta.

Aceasta marime trebuie sa fie mai mica sau egala cu valoarea permisa specificata de producatorul reactivilor sau analizorului, daca aceasta informatie este disponibila. Daca valoarea minima permisa a biasului nu este specificata de producator, atunci laboratorul trebuie sa isi stabileasca propriile criterii.

b) Prin **participari la comparari interlaboratoare**, laboratorul trebuie sa identifice care este abaterea rezultatului pe care il obtine fata de valoarea cu care este comparat. Din analiza rezultatelor la comparari interlaboratore, laboratorul va stabili daca perfomanta sa in comparatie cu alte laboratoare este acceptabila.

4.1.4.5. Incertitudinea de masurare

Incertitudinea de masurare va fi calculată astfel:

a) Se determină **incertitudinea de tip A**
Incertitudinea de tipa A este data de abaterea standard obținută în urma a n măsurări realizate pe materialul de referință, în zile diferite:

$$u_A = s = \sqrt{\frac{\sum_{k=1}^{n}\left(x_k - \bar{x}\right)^2}{n-1}}$$

unde $\bar{x}$ este media aritmetică a celor n rezultate notate cu x_k.

b) Se estimeaza **incertitudinea de tip B**:
Sursele pot fi:
- certificatul de etalonare al echipamentului (acolo unde este aplicabil)

u_B = u specificat in certificatul de etalonare /k specificat in certificatul de etalonare

- specificatii din literatura sau ale producatorului reactivului, echipamentului (daca aceste informatii sunt disponibile si daca certificatul de etalonare al analizorului nu specifica o valoare a incertitudinii pentru analitul respectiv)

- specificatiile materialului de referinta utilizat:
u_B = (limita superioara a materialului de referinta – limita inferioara a materialului de referinta)/$\sqrt{12}$

c) Se calculeaza **incertitudinea compusă**:

$$u_C = \sqrt{u_A^2 + u_B^2}$$

Daca sunt mai multe surse de incertitudine de tip B atunci:

$$u_C = \sqrt{u_A^2 + u_{B1}^2 + u_{B2}^2}$$

d) Se calculeaza **incertitudinea extinsă**:

$U = ku_c$

Pentru o distribuție normală de probabilitati (Gauss), valoarea k = 1 a factorului de acoperire corespunde unui nivel de încredere de 68,27%, valoarea k = 2 corespunde unui nivel de încredere de 95,45 % iar valoarea k = 3 corespunde unui nivel de încredere de 99,73%.

e) Rezultatul unei măsurări a mărimii x va fi exprimat sub forma:

„$x = \bar{x} \pm ku_c(x)$ cu nivelul de încredere corespunzător factorului k ales”

Intervalul de incertitudine este exprimat sub forma:

$(\bar{x} - kuU_c(x), \bar{x} + ku_c(x))$, cu nivelul de încredere corespunzător factorului k ales

4.1.4.6. Robustețea metodei – capacitatea metodei de a conduce la acelasi rezultat atunci cand sunt variati unul sau mai multi parametri de lucru

Laboratorul trebuie sa identifice factorii a caror variatie ar putea afecta rezultatul masurarii.
Pentru fiecare din acesti factori se investigeaza efectul variatiei deliberate a factorului asupra repetabilitatii si exactitatii.

4.1.5. Raportul de validare

Raportul de validare trebuie sa contina urmatoarele:

- prezentarea conditiilor in care a fost realizata validarea (data, responsabil - competenta, echipamente – certificat etalonare, reactivi, calibratori, materiale de referinta utilizate – loturi, termene de valabilitate, conditii de mediu, etc)
- prezentarea cerintelor (de adecvare la scop si de performanta) pe care trebuie sa le satisfaca metoda
- prezentarea rezultatelor obtinute in urma testelor efectuate de laborator (de preferat sub forma tabelara)
- concluzii cu privire la satisfacerea fiecareia dintre cerinte
- o declaratie de validitate a metodei

Raportul de validare va face referire la documente si inregistrari relevante.

5. MODIFICĂRI FAȚĂ DE VERSIUNEA ANTERIOARĂ

Acesta este un document nou.

GUIDE DE VALIDATION DES METHODES EN BIOLOGIE MEDICALE

Document LAB GTA 04

Révision 00 – Juin 2004

Dispositions valides au jour de l'impression

Section Laboratoires

SOMMAIRE

1. OBJET DU DOCUMENT 3
2. DEFINITIONS 3
3. DOMAINE D'APPLICATION 4
4. MODALITES D'APPLICATION 4
5. SYNTHESE DES MODIFICATIONS 4
6. MODALITE DE REEXAMEN 4
7. AVANT-PROPOS 5
8. ETAT DES LIEUX – CONTEXTE REGLEMENTAIRE ET NORMATIF 6
9. QUELLES SONT LES INFORMATIONS PERTINENTES A CONNAITRE ? 10
10. CHOIX PREALABLE A LA VERIFICATION 11
11. VERIFICATION D'UNE METHODE D'ANALYSE QUANTITATIVE - CONTENU DU DOSSIER 12
11.1. VERIFICATION INITIALE D'UNE TECHNIQUE QUANTITATIVE 12
11.2. CONFIRMATION DES PERFORMANCES EN ROUTINE 13
12. VERIFICATION D'UNE METHODE D'ANALYSE QUALITATIVE - CONTENU DU DOSSIER 14
12.1. VERIFICATION INITIALE D'UNE TECHNIQUE QUALITATIVE 14
12.2. CONFIRMATION DES PERFORMANCES EN ROUTINE 14
13. VERIFICATION D'UNE METHODE D'ANALYSE ASSIMILABLE AU QUANTITATIF A RESULTAT QUALITATIF (SEMI-QUANTITATIF) - CONTENU DU DOSSIER 15
13.1. VERIFICATION INITIALE D'UNE TECHNIQUE ASSIMILABLE AU QUANTITATIF 15
13.2. CONFIRMATION DES PERFORMANCES EN ROUTINE 16
14. MAITRISE DE LA DOCUMENTATION - METHODOLOGIE 17
15. EXEMPLES METHODOLOGIQUES 17
15.1. EVALUATION DE LA REPETABILITE 18
15.2. EVALUATION DE LA REPRODUCTIBILITE (FIDELITE INTERMEDIAIRE) 18
15.3. EVALUATION DE LA JUSTESSE 19
15.4. EXEMPLE D'APPLICATION – APPROCHE DE L'ESTIMATION DE L'INCERTITUDE 20
15.5. EVALUATION DE LA CONTAMINATION 20
15.6. EVALUATION DE LA LIMITE DE DETECTION ET DU SEUIL DE QUANTIFICATION 21
15.7. EVALUATION DE LA LINEARITE 22
15.8. EVALUATION DE LA STABILITE 22
15.9. CORRELATION DE METHODES 22
15.10. VERIFICATION DES VALEURS DE REFERENCE 23
16. ANNEXE I - REACTOVIGILANCE 24
17. ANNEXE II - TERMINOLOGIE – AUTRES DEFINITIONS 27
17.1. TERMINOLOGIE 27
17.2. AUTRES DEFINITIONS 27
18. ANNEXE III - BIBLIOGRAPHIE 36

Disposition Validée au jour de l'impression

1. OBJET DU DOCUMENT

La norme NF EN ISO/CEI 17025 définit les prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais; la norme NF EN ISO 15189 définit quant à elle les exigences particulières concernant la qualité et la compétence, pour les laboratoires d'analyses de biologie médicale.

Le présent guide technique définit les recommandations résultant de l'application de la norme NF EN ISO/CEI 17025 ou NF EN ISO 15189 aux domaines de compétences recensées au chapitre 3.

Ces recommandations, que le laboratoire est libre d'appliquer, sont celles reconnues comme étant les plus appropriées par le Cofrac pour répondre aux prescriptions et exigences des normes NF EN ISO/CEI 17025 ou NF EN ISO 15189. Dans tous les cas, le laboratoire devra démontrer que les dispositions prises permettent de satisfaire pleinement la norme.

Ce document constitue un guide pratique d'aide à la validation des méthodes afin de préciser les recommandations en termes de vérification de performances sur site d'une technique analytique (ou d'un couple analyseur/réactif) dans le cadre spécifique des Laboratoires d'Analyses de Biologie Médicale.

Ce guide s'adresse :

- aux Laboratoires d'Analyses de Biologie Médicale (LABM) engagés dans une démarche d'accréditation Cofrac selon la norme NF EN ISO/CEI 17025 ou NF EN ISO 15189, dans ce cas il représente des recommandations fortes, toute autre démarche argumentée et documentée étant cependant acceptable ;
- aux auditeurs du Cofrac et constitue une base d'harmonisation à leur usage ;
- aux fournisseurs pour comprendre et aider les biologistes dans leur démarche.

Ce guide a pour but d'expliciter ce qui est entendu par les aspects de "validation de méthode" dans le cadre précis des laboratoires d'analyses de biologie médicale (LABM). Dans ce domaine, la problématique de la "validation" repose sur le fait que les méthodes d'analyses ne sont pas issues de normes publiées, mais proposées souvent par les fournisseurs et fabricants, avec notamment l'utilisation d'automates et kits de réactifs. Cette "validation" s'inscrit alors dans une vérification des performances annoncées par le fabricant ou souhaitées par le laboratoire, lors de la mise en application (routine) dans son laboratoire du couple automate-réactif, afin de lui apporter confirmation et preuve de la validité des résultats rendus (phase de "qualification"), par rapports à ses propres besoins, c'est-à-dire ceux de leurs clients. Cette validation est à prendre en termes de maîtrise du processus analytique, au niveau initial.

Discussions validées au jour de l'impression

2. DEFINITIONS

Les définitions des termes utilisés dans le présent document se trouvent au chapitre 17, en annexe II, "TERMINOLOGIE – AUTRES DEFINITIONS".
Les références sur lesquelles s'appuie ce guide se trouvent listées au chapitre 18, en annexe III, "BIBLIOGRAPHIE".

3. DOMAINE D'APPLICATION

Le domaine d'application du présent guide concerne le cadre spécifique de la validation des méthodes en Biologie Médicale, tel que précisé au chapitre 1 – Objet du document, et ci-après dans le chapitre 7 – Avant-propos et le chapitre 8 - Etat des lieux – Contexte réglementaire et normatif. En particulier, le présent guide s'attache uniquement à la validation des techniques concernant la phase analytique, en excluant la phase pré-analytique: la "validation" du prélèvement et la conservation du prélèvement en termes de préservation de son intégrité, bien qu'essentiels, ne sont pas abordés dans le présent document, ce qui ne signifie pas que les laboratoires ne doivent pas s'y attacher en prenant des dispositions conformes aux référentiels d'accréditation.
Ce guide est applicable aux laboratoires d'analyses de Biologie Médicale accrédités ou candidats à l'accréditation dans le domaine de la Biologie Médicale, selon les normes NF EN ISO/CEI 17025 et/ou NF EN ISO 15189.
Des laboratoires d'autres domaines analytiques peuvent l'utiliser (ex. œnologie, analyses physico-chimiques des eaux, …), dans la mesure où leurs problématiques en termes de validation de techniques sont semblables à celles recensées ci-après et y correspondent, pour répondre à leurs besoins.

4. MODALITES D'APPLICATION

Ce guide est applicable à compter du 15/06/2004.
Dans le domaine considéré de la Biologie Médicale et au jour de son approbation, ce guide technique d'accréditation reflète l'état d'avancement des connaissances en termes de validation de techniques.

5. SYNTHESE DES MODIFICATIONS

Il s'agit de la première version du document; aucune marque de modification n'est donc indiquée.

6. MODALITE DE REEXAMEN

Les dispositions du présent document seront amenées à être modifiées ou complétées, pour tenir compte de l'évolution des pratiques et de "l'état de l'art", notamment techniques. A ce titre, ce document est revu au moins tous les 3 ans et révisé si nécessaire par la Section Laboratoires.

Dispositions valides au jour de l'impression

7. AVANT-PROPOS

La validation d'une technique doit s'envisager en fonction des différents contextes auxquels est confronté le biologiste ainsi que des différentes spécialités de la Biologie Médicale. "*La validation est toujours un équilibre entre les coûts, les risques et les possibilités techniques*" (extrait de la norme NF EN ISO/CEI 17025, § 5.4.5.3 note 3), et le temps. On entend par validation, "[…] *la confirmation par examen et apport de preuves objectives du fait que les prescriptions particulières en vue d'une utilisation déterminée sont remplies.*" (extrait de la norme NF EN ISO/CEI 17025, § 5.4.5.1).

Au préalable, le biologiste doit lire attentivement le dossier des fournisseurs (notices, fiches techniques, références bibliographiques, …). Il doit évaluer et apprécier ces informations à la lueur de recommandations ou de textes réglementaires, des critères de performance des sociétés savantes, des attentes du prescripteur,… Ce travail d'expertise est la base du métier de biologiste.

Dans un deuxième temps, la validation proprement dite est effectuée. Le champ et la profondeur de cette évaluation dépendent des circonstances et de chaque cas particulier. Cette validation doit être initiale, puis se continuer dans le temps (changement de lots de réactifs [si effet de lot connu], extensions analytiques, maintenance lourde,…). Dans certains cas cette validation est une confirmation de performances d'une technique déjà en cours d'utilisation.

Les Laboratoires d'Analyses de Biologie Médicale font un usage important de coffrets réactifs et systèmes commerciaux. Les critères fondamentaux de caractérisation de la méthode (exemple dossier de marquage CE) sont en principe déterminés par le fabricant. Si ces coffrets réactifs et systèmes sont utilisés strictement dans les conditions préconisées par le fabricant, les méthodes qui y font appel sont prises en compte comme des méthodes "normalisées". Dans ce cas, le laboratoire doit uniquement valider (vérifier) la mise en application dans son environnement propre par rapport à des critères et des limites acceptables (spécifications) qu'il s'est fixé, pour correspondre aux besoins de ses clients. Il n'est en effet pas demandé aux laboratoires d'effectuer de nouveau la caractérisation approfondie des techniques ou des automates, études qui ont déjà été réalisées par le fournisseur ou le fabricant, qui annoncent les performances de leurs méthodes, mais qui ne connaissent pas les besoins du laboratoire.

NOTE : De la définition de la validation découle la méthodologie de la conduite d'un processus de validation :

- "Les prescriptions particulières" identifient les caractéristiques, i.e. les spécifications préalablement définis sur certains critères également choisis, conditions qui doivent être remplies pour déclarer la méthode valide.
Exemple : Pour l'analyse des triglycérides, le laboratoire peut choisir comme étant l'un des paramètres à valider le CV de répétabilité, avec pour limite acceptable une valeur de 3,2 % (critère de performance), cette valeur est la spécification sur ce paramètre et l'un des critères qui doivent être validés.

Dispositions valables au jour de l'impression

- "Examen et apport de preuves objectives" sont constitués par la recherche de références bibliographiques et/ou la mise en œuvre expérimentale de la méthode, pour aboutir à sa caractérisation, sur les paramètres/critères prédéfinis.
Exemple : Pour la réalisation de l'analyse des triglycérides, la bibliographie indique que, sur tel automate, après étude de la documentation du fournisseur, le CV de répétabilité annoncé est de 3,0 %. Le laboratoire mène une étude de répétabilité et passe un échantillon sur son automate 30 fois par exemple et obtient, après compilation de ses données, un CV de 2,8 %.

-"la confirmation" et "sont remplies" indiquent l'étape de confrontation des données bibliographiques et expérimentales (la caractérisation de la méthode) avec les spécifications prédéfinies: il s'agit de la dernière étape du processus de validation: étape de vérification, de déclaration sur la validation de la méthode, de prise de décision et de conclusion.
Exemple : Pour l'analyse des triglycérides, le laboratoire compare les CV obtenus et celui fixé, soit 3,0 % et 2,8 %, CV inférieur à celui préalablement défini (spécification de 3,2 %): il peut déclarer sa méthode valide, pour ce paramètre/critère de la répétabilité.

8. ETAT DES LIEUX – CONTEXTE REGLEMENTAIRE ET NORMATIF

Ce guide sert à établir un protocole d'évaluation des techniques utilisées dans un laboratoire d'analyses de biologie médicale. Cette évaluation permet de constituer le dossier de validation des techniques utilisées dans le laboratoire.

1. Cette validation est une exigence de la norme NF EN ISO/CEI 17025 dans son paragraphe § 5.4 traitant des "*Méthodes d'essai et d'étalonnage et validation des méthodes*", et plus précisément au § 5.4.5 Validation des méthodes, qui est définie au § 5.4.5.1 : "*La validation est la confirmation par examen et l'apport de preuves objectives du fait que les prescriptions particulières en vue d'une utilisation prévue déterminée sont remplies.*"

Le paragraphe 5.4.2 indique que : "Lorsque le client ne spécifie pas la méthode à utiliser, le laboratoire doit sélectionner des méthodes appropriées qui ont été publiées dans des normes internationales, régionales ou nationales, par des organisations techniques de renom ou dans des textes ou revues scientifiques spécialisés, ou spécifiées par le fabricant de l'équipement. Des méthodes développées par le laboratoire ou des méthodes adoptées par le laboratoire peuvent également être employées si elles conviennent à l'usage prévu et qu'elles ont été validées. Le client doit être informé de la méthode choisie. Le laboratoire doit confirmer qu'il peut correctement appliquer des méthodes normalisées avant de les mettre en oeuvre pour des essais ou des étalonnages. En cas de changement de la méthode normalisée, la confirmation doit être répétée."

Cette exigence figure dans le Guide de Bonnes Exécution des Analyses de Biologie Médicale (Arrêté du 26 novembre1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicales) : Définition des termes Evaluation (§ 2.6), Qualification (§ 2.11), Transférabilité (§ 2.13), Valeurs de référence (§2.14), Validation (§ 2.15) ; dans le § 1.1c concernant les installations, l'équipement, l'instrumentation, les produits fongibles et les réactifs "… *s'assurer que les installations, l'équipement et l'instrumentation du laboratoire sont fonctionnels.*"

Dans la nouvelle norme NF EN ISO 15189, la validation est retrouvée au niveau du § 5.3.2, § 5.3.4 et son point. h) mais surtout dans le paragraphe 5.5.1 : "*Le laboratoire doit utiliser*

Disponible validées au jour de l'impression

des procédures analytiques, incluant celle de sélection et d'aliquotage d'échantillons, qui correspondent aux besoins des utilisateurs des prestations de laboratoire et qui conviennent à chaque type d'analyse. Les procédures analytiques conseillées sont celles qui ont été publiées dans des manuels bien établis et faisant autorité, dans des textes et des journaux revus par des experts ou des recommandations régionales, nationales ou internationales. Si des procédures internes sont utilisées, elles doivent êtres validées de manière appropriée pour l'utilisation prévue et parfaitement documentées.", et le paragraphe 5.5.2 : "*Le laboratoire doit utiliser uniquement des procédures validées pour s'assurer qu'elles conviennent à l'utilisation prévue. Les validations doivent être aussi approfondies que nécessaire pour répondre aux besoins de l'application ou du domaine d'application concerné(e). Le laboratoire doit enregistrer les résultats obtenus et la procédure utilisée pour la validation.*
Les méthodes et les procédures sélectionnées doivent être évaluées et donner des résultats satisfaisants avant d'être utilisées pour les analyses médicales. Une revue des procédures par le directeur du laboratoire ou une personne désignée doit être réalisée à l'origine à intervalles définis. Ces revues sont généralement effectuées une fois par an. Ces revues doivent être documentées." Le paragraphe suivant (§ 5.5.3) développe cet aspect de validation en précisant "[…] Les performances et l'aptitude à l'emploi prévu de chaque nouvelle version des trousses de réactifs prêts à l'emploi présentant des modifications importantes en termes de réactifs ou de procédure doivent être vérifiées. Tout changement de la procédure doit être daté et faire l'objet d'une autorisation comme pour les autres procédures."

Le paragraphe 5.3.2 quant à lui indique que "Il doit être démontré (lors de l'installation et au cours de l'utilisation courante) que le matériel est capable d'atteindre les performances requises et qu'il est conforme aux spécifications se rapportant aux analyses.
La direction du laboratoire doit élaborer un programme de surveillance régulière permettant de démontrer l'adéquation de l'étalonnage et du fonctionnement des instruments, des réactifs, et des systèmes analytiques. Elle doit également instaurer un programme de maintenance préventive documenté et enregistré […] respectant, au minimum, les recommandations du fabricant."

2. La notion de validation fait partie des questions les plus fréquemment posées à James O. WESTGARD, PhD (www.westgard.com), référent international en matière de Contrôle de Qualité en Biologie Médicale et qui a édicté leurs règles d'exploitation du même nom : Why is it necessary to validate method performance when the manufacturer has already performed extensive studies? Dans la réponse, il est rappelé que :"method validation studies are actually required by the CLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendments,) regulations".

Note : un amendement pour l'amélioration des laboratoires d'analyses médicales (CLIA) a été voté par le Congrès des USA en 1988. Cet amendement établit des standards de qualité pour tous les tests de laboratoires. L'agence américaine de contrôle pharmaceutique et alimentaire (Food and Drug Administration, FDA) définit les critères du CLIA. Ils doivent être régulièrement revus.

La nécessité de la validation des techniques s'inscrit aussi dans la mise en application de la directive européenne sur le diagnostic *in vitro* (directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* du 27.10.1998) et le marquage CE associé. Cette directive indique dans l'annexe I, exigences essentielles générales (A), point 3: "*Les dispositifs doivent être conçus et fabriqués de manière qu'ils puissent être utilisés aux fins prévues à l'article 1er, paragraphe 2, point b), comme spécifié par le fabricant compte-tenu*

Dispositions validées au jour de l'impression

de l'état de la technique généralement reconnu" ("state of the art" dans la version anglaise). (Voir chapitre 16, Annexe I - Réactovigilance).

Remarque 1 : L'état de l'art (ou état de la technique généralement reconnu) est une notion vague dont la mention a pour but d'indiquer aux fabricants qu'il n'est pas approprié de développer des techniques globalement jugées obsolètes en terme de performances, au regard de l'ensemble des autres techniques présentes sur le marché pour un même paramètre. La seule exigence imposée aux fabricants est qu'ils sont tenus d'atteindre les performances qu'ils annoncent. Ces performances devront donc être impérativement réclamées au fournisseur par le biologiste, si ce dernier ne les trouve pas de façon suffisamment explicite au niveau de la documentation. Pour les produits évalués par les organismes notifiés (réactifs et produits listés dans l'annexe II de la directive), les certificats émis par les organismes notifiés ont une durée maximum de 5 ans. Il faut donc être très attentif sur les performances retenues par les fournisseurs comme étant représentatives de l'état de l'art. Le délai de 5 ans pour la réévaluation des produits de l'annexe II peut s'avérer trop long pour certaines techniques très évolutives. La durée du marquage CE pour les réactifs et produits hors annexe II n'est pas explicite et peut conduire à trouver sur le marché des produits pour lesquels l'état de l'art a sensiblement évolué depuis leur mise sur le marché.

Remarque 2 : La validation ne constitue pas un "doublon" avec les études approfondies effectuées par les fournisseurs. Il est important de démontrer que la méthode (généralement un couple analyseur/réactif) fonctionne correctement dans les conditions opératoires du laboratoire et qu'elle donne des résultats sûrs pour les patients. Beaucoup de facteurs peuvent affecter les performances d'une méthode tels que les différents lots de calibrateurs et de réactifs, les changements dans les consommables et de fournisseurs d'accessoires, les changements selon les lots de fabrication des instruments et/ou des réactifs, les conditions d'expédition et de stockage, les conditions ambiantes locales, la qualité de l'eau, la stabilité de l'alimentation électrique et bien évidemment la compétence ("habileté, dextérité") de l'utilisateur. Cette validation est une validation de mise en application, ou encore une vérification de performance sur site.

3. La validation apparaît alors dans cet environnement comme un élément incontournable. En effet, outre la compétence du Biologiste, et l'utilisation et la correcte gestion des contrôles de Qualité (CQI, CQE), elle permet d'assurer la qualité de la prestation d'analyse et la fiabilité du résultat. En outre cette validation sera mise à profit pour estimer les incertitudes de mesures analytiques du laboratoire, à partir des performances analytiques des méthodes, notion présente dans le GBEA, § 4. Expression des résultats et comptes rendus d'analyses, § 4.1. Expression des résultats : "*L'expression des résultats doit être précise et sans équivoque. Les valeurs de référence doivent être indiquées. La méthode d'analyse et/ou les réactifs utilisé(e)(s) doivent être mentionné(e)(s) chaque fois qu'ils peuvent influer sur l'expression du résultat ainsi que lorsque la réglementation l'exige. Pour les résultats quantitatifs, le cas échéant, les performances analytiques de la méthode peuvent être indiquées. Les unités du système international (SI) doivent être utilisées quand elles existent.*"

Cette estimation de l'incertitude de mesure se retrouve dans la norme NF EN ISO/CEI 17025 au § 5.4.6 "*Estimation de l'incertitude de mesure*", avec au § 5.4.6.2 *"Les laboratoires d'essais doivent aussi posséder et appliquer des procédures pour estimer l'incertitude de mesure. Dans certains cas, la nature de la méthode d'essai exclut un calcul rigoureux, métrologiquement et statistiquement valable, de l'incertitude de mesure. Dans de tels cas, le*

Dispositions valides au jour de l'impression

laboratoire doit au moins tenter d'identifier toutes les composantes de l'incertitude et faire une estimation raisonnable, tout en assurant que la manière d'en rendre compte ne donne pas une impression erronée de l'incertitude. Une estimation raisonnable doit se baser sur une connaissance de la performance de la méthode et sur le domaine de la mesure et faire appel, par exemple, à l'expérience acquise et aux données de validation antérieures."

Cette approche des incertitudes est aussi une exigence de la nouvelle norme NF EN ISO 15189. Dans le paragraphe traitant de la validation, § 5.5.3, son point g) indique "*les sources potentielles de variation des résultats.*" En outre, dans le § 5.6.2, il est indiqué : "*Le laboratoire doit déterminer l'incertitude des résultats, dans le cas où cela est pertinent et possible. Toutes les composantes importantes de l'incertitude doivent être prises en compte. Les sources contribuant à l'incertitude peuvent inclure l'échantillonnage, la préparation des échantillons, la sélection des aliquotes d'échantillon, les calibrateurs, les matériaux de référence, les grandeurs d'entrée, l'équipement utilisé, les conditions expérimentales, l'état de l'échantillon et les changements de manipulateurs.*"

Il faut enfin remarquer que la notion d'information de bénéfice-risque pour le patient est une disposition réglementaire, conformément au décret 2002-637 du 29 avril 2002 relatif à l'accès aux informations personnelles détenues par les professionnels de la santé ; chaque patient peut avoir accès à son dossier médical directement ou par l'intermédiaire d'un médecin qu'il désigne. De ce fait le biologiste doit pouvoir mettre à disposition du prescripteur et du patient, en cas de besoin, une approche dans l'évaluation des incertitudes de mesure.

Dispositions valides au jour de l'impression

9. QUELLES SONT LES INFORMATIONS PERTINENTES A CONNAITRE ?

D'une manière générale, une méthode d'analyse présente plusieurs caractéristiques essentielles que le laboratoire se doit de connaître. **La connaissance de ces paramètres peut être acquise par la bibliographie** (si possible indépendante du fournisseur) **et/ou par l'expérimentation sur site**.

Schématiquement, on distingue trois types de méthodes d'analyse que l'on est amené à traiter différemment :

1. **Les analyses de type quantitatif vrai :**

Elles fournissent un résultat chiffré, sur une échelle continue dont les limites basses et hautes sont connues, en relation directe avec une quantité ou une activité donnée de l'analyte à mesurer.

2. **Les analyses de type qualitatif :**

Le résultat de ce type d'analyse n'apporte pas d'information sur la quantité de l'analyte, mais seulement sur sa présence ou son absence (positif/négatif), ou éventuellement sur une présence ou une activité supérieure à celle d'un témoin donné (cas des titrages). On peut classer dans cette catégorie toutes les analyses dont le résultat est obtenu par la lecture de la réaction par un observateur, par comparaison avec des témoins positif, négatif, ou de titre donné, et donc avec une part de subjectivité.

3. **Les analyses assimilables à des analyses quantitatives (semi-quantitatives) :**

Dans ce cadre seront regroupées des analyses fournissant un résultat de type qualitatif, extrapolé à partir de la mesure d'une donnée quantifiable (Densité Optique par exemple), avec un effet de seuil (analyses réalisées en technique EIA ou RIA par exemple).

Remarques :

- Les analyses de biochimie, d'hormonologie, de numération globulaire, et d'hémostase courante sont des analyses de type quantitatif vrai, ainsi qu'en immunologie par exemple le dosage pondéral des immunoglobulines, des IgE totales, des fractions du complément, ou du dosage d'anticorps (Ac anti-HBs, etc.),
- Certaines analyses de sérologies virales (hépatites, HIV et HTLV, CMV, etc.), parasitaires (toxoplasmose, etc.) sont des analyses assimilables à des analyses quantitatives,
- Les analyses faisant appel à des principes d'Immunochromatographie (sérologies rapides unitaires par exemple), de Blot et assimilés (Western-Blot, RIBA, etc.), d'agglutination de latex, de particules sensibilisées ou d'hématies (VDRL, TPHA, Facteur rhumatoïde, RAI, groupage sanguin et RAI, etc.), d'Immunoélectrophorèse, ou d'Immunofluorescence (auto-anticorps, sérologies, recherche de bactérie, mycobactéries) sont typiquement des analyses de type qualitatif.

Disposition valide au jour de l'impression

Selon l'appartenance de la méthode à un de ces trois types d'analyse ainsi défini, les informations pertinentes à connaître, paramètres, sont exposées dans le tableau ci-dessous :

Méthode quantitative	Méthode qualitative	Méthode assimilable au quantitatif (semi-quantitatif)
Spécificité	*Spécificité*	*Spécificité*
Fidélité (répétabilité et reproductibilité)	*NA**	*Répétabilité et reproductibilité*
Justesse (approche de la)	*NA**	*NA**
Domaine d'analyse	*NA**	*NA**
Sensibilité : *Limite de détection* *Limite de quantification*	*Sensibilité diagnostique*	*Sensibilité diagnostique*
Linéarité	*NA**	*NA**
Contamination entre échantillons (s'il y a lieu)	*Contamination entre échantillons (s'il y a lieu)*	*Contamination entre échantillons (s'il y a lieu)*
Stabilité	*Stabilité*	*Stabilité*
Robustesse	*Robustesse*	*Robustesse*
Valeurs de référence *« ex- valeurs normales »*	*NA**	*NA**
Interférences	*Interférences*	*Interférences*
*Corrélation avec méthode de référence *** *Corrélation avec méthode déjà utilisée au laboratoire ***	*Corrélation avec méthode de référence *** *Corrélation avec méthode déjà utilisée au laboratoire ***	*Corrélation avec méthode de référence *** *Corrélation avec méthode déjà utilisée au laboratoire ***

** : Non applicable* *** : Chaque fois que cela est nécessaire*

NOTE 1 : La notion de justesse est abordée par l'"approche" de la justesse. En absence d'étalons primaires et/ou de matériaux de référence certifiés (CRM) pour la plupart des analytes, la notion de justesse en biologie médicale est d'approche difficile, voire relative. Le laboratoire pourra utiliser les "calibrants" des fournisseurs, les données du Contrôle de Qualité Externe (CQE), ou encore la confrontation externe du Contrôle de Qualité Interne (CQI) pour approcher cette justesse. Il convient cependant de bien tracer les raccordements pour les techniques, quand cela est possible.

NOTE 2 : la caractérisation des paramètres de répétabilité et de reproductibilité (fidélité) d'une part, et de justesse d'autre part, constituent deux composantes de l'incertitude de mesure, dans le calcul d'incertitude globale selon l'approche ISO 5725. Associées aux composantes d'étalonnage, le cas échéant, et à d'autres composantes, l'incertitude globale peut alors être déterminée (voir chapitre 15.4, Exemple d'application).

10. CHOIX PREALABLE A LA VERIFICATION

- **DES CRITERES DE PERFORMANCE ET LIMITES D'ACCEPTABILITE DE LA METHODE,**
- **DES VERIFICATIONS EXPERIMENTALES,**
- **DES VERIFICATIONS BIBLIOGRAPHIQUES.**

Dispositions valides au jour de l'impression

A ce stade, il est fondamental de souligner que :

- Le choix des critères de performances (paramètres) et limites d'acceptabilité (spécifications, seuils) associés d'une méthode doit se faire PREALABLEMENT à l'étude de validation,
- Ce choix est du ressort du biologiste,
- Ce choix doit refléter l'état de l'art et la pertinence clinique. Il peut s'appuyer sur des recommandations de l'ANAES, de sociétés savantes ou de groupes de travail, ou issues de conférences de consensus, sur des publications scientifiques, ses propres valeurs limites utilisée pour la gestion du CQI, sur des résultats de campagnes d'inter-comparaison, etc.,
- Les limites d'acceptabilité ainsi choisies doivent être adaptées et notifiées pour chacun des niveaux et pour chacun des analytes qui seront contrôlés dans l'étude,
- Les recommandations de l'AFSSAPS en matière de réactifs de laboratoires doivent être respectées.

Ces limites d'acceptabilité peuvent reposer sur différentes approches : l'intervalle des valeurs de référence (prise en compte de la variation biologique inter-individuelle et de la variation analytique), les variations biologiques inter-individuelles et intra-individuelles, l'opinion des cliniciens et l'état de l'art (il est généralement établi à partir des résultats de contrôle de qualité intra et/ou inter laboratoires).

Exemple : un des critères de performance (paramètres) et limites acceptables sont par exemple en Biochimie, les CV de reproductibilité et leurs valeurs limites associées, pouvant provenir des recommandations de la SFBC par exemple, pour des analyses quantitatives (article de A. VASSAULT et col., 1999, Annales de Biologie Cliniques; cf. chapitre 18, Annexe III – Bibliographie).

11. VERIFICATION D'UNE METHODE D'ANALYSE QUANTITATIVE - CONTENU DU DOSSIER

La vérification d'une méthode comprend une phase initiale, avant sa mise en œuvre effective en routine, et une phase de vérification continue et de confirmation des performances dans le cadre du fonctionnement normal et quotidien du laboratoire.

11.1. VERIFICATION INITIALE D'UNE TECHNIQUE QUANTITATIVE

Dans ce cadre, le dossier doit apporter les éléments de vérification suivants, par recherche bibliographique et/ou par vérification sur site :

Dispositions valides à jour de l'impression

PARAMETRES A VERIFIER ET/OU CONNAITRE	Bibliographie	Vérification sur site
Spécificité	*Oui*	*Non*
Fidélité (répétabilité et reproductibilité)	*Oui*	*Oui*
Justesse (approche de la)	*Oui*	*Oui, si possible*
Domaine d'analyse	*Oui*	*Si besoin*
Sensibilité : *Limite de détection* *Limite de quantification*	*Oui*	*Si besoin*
Linéarité	*Oui*	*Si besoin et si possible*
Contamination entre échantillons (s'il y a lieu)	*Oui*	*Oui, pour les paramètres sensibles*
Stabilité	*Oui*	*Si besoin*
Robustesse	*Oui*	*Non*
Interférences	*Oui*	*Si besoin*
Valeurs de référence « ex- valeurs normales »	*Oui*	*(plus tard)*
Corrélation avec méthode de référence *Corrélation avec méthode déjà utilisée au labo*	*Oui* *Oui (si existe)*	*Non* *Oui (si possible)*
Le dossier doit conclure sur l'avis d'aptitude ou d'inaptitude de la méthode ou du système analytique.		

Certains de ces éléments peuvent éventuellement être vérifiés au début de la mise en œuvre en routine de la méthode (la reproductibilité notamment).

Le dossier de vérification peut renvoyer à d'autres documents (bibliographie, notices fournisseurs, documents internes au laboratoire, etc.), correctement identifiés et accessibles.

11.2. CONFIRMATION DES PERFORMANCES EN ROUTINE

Pour maîtriser pleinement une technique, l'utilisation, la gestion et le suivi de contrôles de qualité internes (CQI) et externes (EEQ) est indispensable.

Leur exploitation statistique permet de vérifier et de confirmer les éléments suivants :

- **fidélité intermédiaire (reproductibilité interne au laboratoire),**
- **justesse,** ou du moins en faire une approche en l'absence de matériau de référence,
- **vérification (et l'adaptation éventuelle) des valeurs de références** de la méthode pour la population du laboratoire.

Note : La fidélité intermédiaire est le terme normatif utilisé, notamment dans les autres domaines analytiques, correspondant au terme "reproductibilité" employé couramment en laboratoire d'analyses de Biologie Médicale (reproductibilité interne au laboratoire). En toute rigueur la notion de reproductibilité s'applique à plusieurs laboratoires (cf. ISO 5725, partie 2 et 3). Cependant dans le domaine de la biologie médicale, on l'entend par la variation interne d'un laboratoire.

Dispositions valides au jour de l'impression

12. VERIFICATION D'UNE METHODE D'ANALYSE QUALITATIVE - CONTENU DU DOSSIER

12.1. VERIFICATION INITIALE D'UNE TECHNIQUE QUALITATIVE

Il est souvent très difficile pour les laboratoires d'obtenir des échantillons positifs (ou négatifs) en nombre suffisant pour vérifier la spécificité et la sensibilité diagnostique d'une méthode. En raison d'un recrutement forcément insuffisant, cela n'est possible que dans les laboratoires importants (techniques de RAI, de groupage, de sérologies, etc.).
La vérification bibliographique critique prend donc ici toute son importance. Inversement, la vérification expérimentale sur site est plus réduite, et s'appuie fortement sur l'étude des performances des Evaluations Externes de la Qualité.

Dans ce cadre, le dossier doit apporter les éléments de vérifications suivants :

PARAMETRES A VERIFIER ET/OU CONNAITRE	Bibliographie	Vérification sur site
Spécificité	*Oui*	*Non*
Sensibilité diagnostique	*Oui*	*Si besoin*
Contamination entre échantillons (s'il y a lieu)	*Oui*	*Oui*
Stabilité	*Oui*	*Si besoin*
Robustesse	*Oui*	*Non*
Corrélation avec méthode de référence *Corrélation avec méthode déjà utilisée au labo*	*Oui* *Oui (si existe)*	*Non* *Oui (si possible)*
Le dossier doit conclure sur l'avis d'aptitude ou d'inaptitude de la méthode ou du système analytique.		

L'évaluation des critères de spécificité et sensibilité est à réaliser en utilisant par exemple des échantillons, sérum (sérothèque) ou des Contrôles de Qualité Internes de caractéristiques connues.

NOTE à propos de l'étude de contamination :

- Cette étude de contamination inter-échantillon est à mener pour tous les systèmes automatisés,
- Elle porte surtout sur les paramètres réputés sensibles à ce genre d'influence (β-HCG, Antigène HBs [l'antigène HBs est aussi souvent déterminé à l'aide d'une technique qualitative assimilable à une technique quantitative], etc.),
- Cette étude est à répéter au moindre doute quant au fonctionnement correct du système automatisé, et en particulier du système de lavage et/ou de décontamination.

Le dossier de vérification peut renvoyer à d'autres documents (bibliographie, notices fournisseurs, documents internes au laboratoire, etc.), correctement identifiés et accessibles.

12.2. CONFIRMATION DES PERFORMANCES EN ROUTINE

Pour maîtriser pleinement une technique, là aussi, l'utilisation, la gestion et le suivi de contrôles de qualité internes (CQI) et externes (CQE) est indispensable.

Dispositions valides au jour de l'impression

La spécificité et la sensibilité diagnostique sont les paramètres essentiels à maîtriser. Leur surveillance passe :

- Par l'étude des CQI et CQE (performances du laboratoire, comparaison avec les autres méthodes),
- Par le suivi des informations de réactovigilance (cf. chapitre 16, Annexe I - Réactovigilance).

13. VERIFICATION D'UNE METHODE D'ANALYSE ASSIMILABLE AU QUANTITATIF A RESULTAT QUALITATIF (SEMI-QUANTITATIF) - CONTENU DU DOSSIER

Ce cas de figure est très proche de celui des méthodes purement qualitatives, mais certaines caractéristiques supplémentaires peuvent être vérifiées sur site.

13.1. VERIFICATION INITIALE D'UNE TECHNIQUE ASSIMILABLE AU QUANTITATIF

S'agissant de méthodes fournissant un résultat final de type qualitatif, les laboratoires se heurtent à la même difficulté pour obtenir des échantillons positifs (ou négatifs) en nombre suffisant pour vérifier la spécificité et la sensibilité diagnostique.
La vérification bibliographique critique prend donc ici toute son importance. Le fabricant doit donc fournir ces éléments en s'appuyant sur des études menées par des experts indépendants.
Inversement, la vérification expérimentale sur site est plus réduite que pour une méthode quantitative, mais elle permet néanmoins de vérifier certains éléments.

Dans ce cadre, le dossier doit apporter les éléments de vérifications suivants :

PARAMETRES A VERIFIER ET/OU CONNAITRE	Bibliographie	Vérification sur site
Spécificité	*Oui*	*Non*
Fidélité (répétabilité et reproductibilité)	*Oui*	*Oui*
Sensibilité diagnostique	*Oui*	*Si besoin*
Contamination entre échantillons (s'il y a lieu)	*Oui*	*Oui*
Stabilité	*Oui*	*Si besoin*
Robustesse	*Oui*	*Non*
Interférences	*Oui*	*NA*
Corrélation avec méthode de référence *Corrélation avec méthode déjà utilisée au labo*	*Oui* *Oui (si existe)*	*Non* *Oui (si possible)*
Le dossier doit conclure sur l'avis d'aptitude ou d'inaptitude de la méthode ou du système analytique.		

L'évaluation des critères de spécificité et sensibilité est à réaliser en utilisant par exemple des échantillons, sérum (sérothèque) ou des Contrôles de Qualité Internes de caractéristiques connues.

Dispositions valables au jour de l'impression

NOTE à propos de l'étude de contamination :

- Cette étude de contamination inter-échantillons est à mener pour tous les systèmes automatisés,
- Elle porte surtout sur les paramètres réputés sensibles à ce genre d'influence (β-HCG, Antigène HBs, etc.),
- Cette étude est à répéter au moindre doute quant au fonctionnement correct du système automatisé, et en particulier du système de lavage et/ou de décontamination.

Le dossier de vérification peut renvoyer à d'autres documents (bibliographie, notices fournisseurs, documents internes au laboratoire, etc.), correctement identifiés et accessibles.

NOTE à propos de la robustesse : l'influence de l'incubation peut avoir des conséquences directes sur le résultat, il peut être recommandé de vérifier que l'incubateur atteint bien le point de consigne sans dépassement supérieur lors de la stabilisation, de vérifier que sur une microplaque, les bords de celle-ci ne donnent pas des résultats différents de ceux des puits du centre.

13.2. CONFIRMATION DES PERFORMANCES EN ROUTINE

La spécificité et la sensibilité diagnostique sont les paramètres essentiels à maîtriser. Leur surveillance passe :

- Par la comparaison avec les résultats obtenus par d'autres méthodes complémentaires ou par des techniques de référence mises en œuvre pour vérifier un premier résultat.
- Par l'étude des CQI et CQE (performances du laboratoire, comparaison avec les autres méthodes)
- Par le suivi des informations de réactovigilance (cf. chapitre 16, Annexe I - Réactovigilance).

La reproductibilité (interne au laboratoire ou fidélité intermédiaire) doit également être régulièrement vérifiée, surtout pour les valeurs proches du seuil décisionnel ("cut-off"). En raison des variations de fabrication inter-lots des réactifs, cette information n'est probablement pertinente que pour un seul lot, et devrait donc être régulièrement réévaluée au fil de l'utilisation successive des différents lots.

Dispositions valides au jour de l'impression

14. MAITRISE DE LA DOCUMENTATION - METHODOLOGIE

Cette partie du guide est importante car si beaucoup d'informations et résultats sont collectés, ceux-ci doivent faire l'objet d'un document cohérent et clair, avec une acceptation formelle par le laboratoire de la validité opérationnelle de ses techniques, c'est-à-dire une décision ou déclaration quant à la validation de la méthode, proprement dit. Le laboratoire peut présenter ses dossiers suivant le schéma suivant, qui pourra être celui de sa procédure ou de sa méthodologie :

- Présentation de la technique, de l'appareillage et du mode opératoire. But de la vérification/validation. Domaine d'application,
- Détermination des critères de performances (paramètres) à vérifier (cf. chapitres 10,11, 12 et 13),
- Détermination des spécifications ou limites acceptables (objectifs à atteindre) de ces critères à remplir (cf. chapitre 10, Choix préalable à la vérification),
- Vérification bibliographique,
- Mise en œuvre – Expérimentations (cf. chapitre 15, Exemples méthodologiques),
- Compilation et traitement statistique des données obtenues,
- Conclusion et décision quant à la validation opérationnelle de la technique, au regard des spécifications (limites acceptables) initialement fixées.

15. EXEMPLES METHODOLOGIQUES

Ce paragraphe décrit des principes méthodologiques ou des recommandations permettant de vérifier les paramètres essentiels d'une méthode :

- Répétabilité,
- Reproductibilité interne au laboratoire (fidélité intermédiaire),
- Justesse,
- Contamination inter-échantillons,
- Limite de détection, seuil de quantification,
- Linéarité,
- Stabilité,
- Corrélation de méthodes,
- Vérification des valeurs de référence, …

NOTE : Après la présentation des paramètres de fidélité (reproductibilité interne) et de justesse, est présenté en exemple d'application, une approche de l'estimation de l'incertitude de mesure.

Les laboratoires peuvent s'en inspirer. D'autres démarches peuvent être possibles, elles devront être justifiées.

Remarque : Ce dossier peut dans certains cas être constitué au fil du travail du laboratoire. Dans ce cas la période doit être la plus courte possible, le rappel éventuel de résultats de patient doit être documenté. Il est souhaitable de prévoir une sérothèque particulière à ces essais afin de pouvoir assurer un raccordement entre deux techniques successives. En cas de modification de technique ou d'un couple analyseur/technique il est souhaitable, dans la mesure du possible, de pouvoir disposer simultanément de la nouvelle et de l'ancienne technique pour pouvoir mener des essais en parallèle de corrélation.

Dispositions valides au jour de l'impression

NOTE : Dans le cadre de l'accréditation, le laboratoire doit présenter au COFRAC, deux éléments différents :
la procédure qui décrit les lignes directrices et les modalités du processus qu'il suit pour la validation de ces méthodes en général (cf. ce guide),
les dossiers de validation de ces méthodes proprement dites, qui sont des enregistrements : éléments de preuve, bibliographie, choix et spécifications, données brutes, calculs, conclusions quant à la validation du biologiste, …

15.1. EVALUATION DE LA REPETABILITE

L'essai de répétabilité consiste à effectuer l'analyse d'un même échantillon pour la même analyse dans des conditions standardisée : même opérateur, même lots et réactifs, même instrument, même calibrateur. L'objectif est de caractériser la meilleure performance possible, dans des conditions optimales.
En pratique, cet essai est réalisé au cours d'une même série. Il est recommandé d'utiliser plusieurs niveaux de concentration ("bas", "moyen", "élevé"). Ces niveaux sont choisis en fonction des valeurs physiopathologiques. Le nombre de détermination dépend de la cadence de l'automate à valider, du coût des réactifs, … Cet effectif peut être compris entre 10 et 30 (5 si technique manuelle et/ou réactif très onéreux). La valeur statistique des résultats obtenus dépend de ces effectifs.

L'exploitation des résultats consiste à calculer la moyenne (m), l'écart-type (s) et le coefficient de variation (CV) des valeurs expérimentales de chaque série. Pour mémoire, le CV est,

$$\text{CV en \%} = \frac{(s)}{m} \times 100$$

Le CV ainsi calculé est une expression simplifiée de la répétabilité de la méthode en %. Cette façon d'estimer la répétabilité est d'usage courant en laboratoires d'analyses de Biologie Médicale. La définition stricte et le mode d'expression exacte de la fidélité se trouvent dans la norme ISO 5725-2. Pour la vérification, le CV est comparé au CV% limite admissible, préalablement choisi (cf. chapitre 10, Choix préalable à la vérification).

Ce calcul est répété pour chacun des échantillons (sérum, urine, LCR,…) soumis à analyse ou sur les échantillons du Contrôle de Qualité Interne (CQI). Pour un même analyseur, ce calcul doit être effectué pour chaque analyte à mesurer : substrats, activité catalytiques, immuno-dosages.

15.2. EVALUATION DE LA REPRODUCTIBILITE (FIDELITE INTERMEDIAIRE)

L'essai de reproductibilité (interne au laboratoire, ou fidélité intermédiaire) consiste à effectuer l'analyse d'un même échantillon pour la même analyse dans des conditions différentes : l'opérateur, les lots de réactifs, les calibrateurs et courbes de calibration peuvent être des données variables, correspondant à une activité normale et quotidienne du laboratoire, pour évaluer la fidélité intermédiaire en routine.

En pratique, cet essai est réalisé au cours de séries successives, en général 1 à 2 par jour, par le passage des échantillons de Contrôle de Qualité Interne (CQI) quotidiens.

Dispositions valides aujourd'hui d'impression

15 à 30 déterminations minimum, selon les techniques sont nécessaires pour chacun des types d'échantillons.

Les modalités de calcul sont identiques à celles de la répétabilité, avec calcul de la moyenne (m), de l'écart-type (s) et du coefficient de variation (CV) sur les valeurs expérimentales de chaque série ; le CV ainsi calculé est comparé au CV limite admissible.

Le CV obtenu représente la reproductibilité (interne au laboratoire) de la méthode, exprimé en %. De même, la définition stricte et le mode d'expression exacte de la reproductibilité interne (ou fidélité intermédiaire) se trouvent dans la norme ISO 5725-2. Cette norme présente en outre des méthodes de décomposition de la reproductibilité interne pour permettre d'évaluer l'importance et la part de chaque facteur de variabilité.

N.B. : Pour des raisons pratiques, cette évaluation peut éventuellement être menée après l'installation en routine du système analytique et la mise en œuvre de la méthode, si et seulement si, les autres spécifications sont bien atteintes.

Note : la répétabilité et la reproductibilité (interne au laboratoire ou fidélité intermédiaire) apparaissent donc comme les 2 extrêmes de la fidélité, au sein du laboratoire. Il convient que ces deux extrêmes soient les plus proches possibles, signe de robustesse de la méthode.

15.3. EVALUATION DE LA JUSTESSE

En biologie médicale, il n'existe pas, à de rares exceptions près, d'échantillons de contrôles raccordés sur le plan métrologique à des étalons internationaux ; il est donc impossible de parler *stricto sensu* de "valeur vraie" et par là-même de justesse.
En absence d'échantillon certifié, on peut utiliser des échantillons utilisés pour des EEQ réguliers (et dont la commutabilité a été vérifiée ou prouvée), et pour lesquels la valeur cible retenue est la moyenne des résultats cumulés de l'ensemble des utilisateurs de la méthode pour le lot en cours. Il est souhaitable (mais pas obligatoire) d'utiliser des échantillons de différentes origines commerciales (différente du couple analyseur/technique).

La justesse, quantifiée par le biais, est estimée en comparant la moyenne obtenue (m) lors de l'étude de répétabilité et/ou de reproductibilité à la valeur cible attendue, assimilée à la valeur "vraie" (v) de l'échantillon testé.

Elle est exprimée en pourcentage de la valeur cible, selon le calcul suivant :

$$\text{Biais en \%} = \frac{(m - v)}{v} \times 100$$

Cette justesse peut aussi être contrôlée à l'aide des valeurs de référence qui peuvent être comparées à celles de la littérature.

Le concept de justesse et les méthodes d'évaluation du biais sont développées dans l'ISO 5725-4.

Dispositions valables jusqu'à l'impression

15.4. EXEMPLE D'APPLICATION – APPROCHE DE L'ESTIMATION DE L'INCERTITUDE

Les données de validation, et en particulier celles relatives à la fidélité et à la justesse, permettent une approche de l'estimation de l'incertitude associée au résultat de l'analyse. En effet, la caractérisation des paramètres de fidélité (répétabilité ou reproductibilité interne) d'une part, et de justesse (biais) d'autre part, constitue deux composantes de l'incertitude de mesure, dans un calcul d'incertitude globale selon l'approche ISO 5725. Pour cette approche de calcul, on prend le cas de composantes indépendantes.

Ainsi, si u_1 est la composante d'incertitude due à la fidélité, celle-ci est approchée par l'écart-type de reproductibilité :

$$u_1 = s_{repro}$$

Pour ce qui est de la composante d'incertitude due à la justesse, u_2, elle est donnée par la relation :

$$u_2 = biais/\sqrt{3} \qquad \text{(Loi rectangle)}$$

En l'absence de matériaux de référence, *i.e.* d'"étalon", de valeur "vraie" connue (avec une incertitude associée, u_{ref}), le laboratoire peut utiliser pour estimer la composante d'incertitude due à la justesse, les données de Contrôle de Qualité Externe (CQE). Dans ce cas, u_2 peut alors s'exprimer différemment.

Ces composantes d'incertitudes, combinées le cas échéant à celle de matériau de référence (u_{ref}), celles d'étalonnage (u_{et}) ainsi qu'aux autres facteurs de variabilité propres à chaque méthode (v), permettent de déterminer l'incertitude globale, *i.e.* l'incertitude combinée (u_c), selon la relation issue de la somme quadratique des composantes d'incertitude,

$$u_c = \sqrt{u_1^2 + u_2^2 + u_{ref}^2 + u_{et}^2 + \Sigma u_v^2}$$

Enfin, l'incertitude élargie U est alors conventionnellement calculée,

$U = 2.u_c$ (pour indiquer que l'intervalle compris entre la valeur mesurée +/- U contiendra conventionnellement la valeur "vraie" à 95 %, dans le cas d'une distribution gaussienne)

Le résultat de la mesure analytique, R, s'exprimera alors,

R = valeur mesurée +/- U (unité)

15.5. EVALUATION DE LA CONTAMINATION

Une étude des contaminations inter-échantillon peut être effectuée de la façon suivante :
Après rinçage de l'appareil, un échantillon élevé (ou positif fort) est analysé 3 fois consécutivement (H1, H2, H3, de moyenne H) suivi d'un échantillon bas également passé 3 fois (B1, B2, B3).

Dispositions valides au jour de l'impression

Remarque : en technique micro plaque assimilable à du quantitatif, il est préférable de disposer les échantillons positifs et négatifs en fonction de la structure du peigne de lavage.

Le pourcentage de contamination entre les échantillons est calculée selon la formule suivante :

$$\textbf{Contamination en \%} = \frac{(B1 - B3)}{H} \times 100$$

NB : Compte tenu de l'importance clinique de certains paramètres, le niveau de la contamination doit être maintenue à zéro ou entraîner des règles de repassage argumentées.

Remarque : Cette méthode de calcul ne peut pas s'appliquer à la micro plaque et l'EIA. Mais il est possible de vérifier que les valeurs de DO des échantillons négatifs sont bien négatifs, de même pour les échantillons positifs.

15.6. EVALUATION DE LA LIMITE DE DETECTION ET DU SEUIL DE QUANTIFICATION

Limite de détection : Il s'agit du plus petit signal exprimé en quantité ou en concentration qui peut être distingué avec une probabilité donnée d'un blanc de réaction réalisé dans les meilleures conditions. C'est la quantité minimale détectable pour laquelle la réponse (en signal mesuré) peut être distinguée avec une probabilité donnée d'un blanc de réaction (pour une HPLC la limite de détection peut être déterminée comme étant égale au triple de l'écart-type obtenu à partir du signal correspondant à la ligne de base mesuré 10 fois).

L'étude de la limite de détection est basée sur l'analyse statistique de la différence de signaux observés pour les blancs et les échantillons.

Pour l'estimer, on peut effectuer 30 mesures répétées des blancs (sérum dépourvu de la substance à doser, calibrateur zéro, diluant) dans une même série, et on calcule la moyenne obtenue (m) et l'écart-type (s) exprimé en concentration de ces 30 mesures.

La limite de détection peut être calculée selon la formule suivante :

$$\textbf{Limite de détection} = m + 3s$$

Seuil de quantification : Le seuil de quantification correspond à la plus petite valeur exprimée en concentration, rendue avec une confiance acceptable et d'incertitude connue. Il est convenu qu'il s'agit donc la valeur pour laquelle le CV et/ou l'écart à la valeur théorique est supérieur à une valeur pré-établie, fonction du paramètre à doser (exemple : 10 %, dans le cas de la troponine plasmatique).

Pour cela, on peut réaliser des dilutions du calibrateur ou de l'échantillon de Contrôle de Qualité Interne le plus bas (différent de 0) avec le diluant, selon le schéma : 100 + 0 ; 90 + 10 ; ….10 + 90 ; 0 + 100 soit 11 échantillons à mesurer chacun 10 fois dans une série unique.

Dispositions valides au jour de l'impression

Pour déterminer le seuil de quantification, on calcule, pour chaque série de mesures des différentes dilutions, l'écart-type (s), le Coefficient de Variation (CV) et l'écart de la moyenne (m) à la valeur théorique.

> Seuil de quantification = valeur pour laquelle le CV et/ou l'écart à la valeur théorique est supérieur à la valeur pré-établie (ex. 10%).

15.7. EVALUATION DE LA LINEARITE

Par dilution d'échantillons de concentration très élevée, les résultats obtenus permettront de vérifier cette linéarité, mais aussi de s'assurer de la nature du diluant nécessaire et/ou recommandé et des pipettes utilisées à cet effet. Cette étude porte sur les analyses pour lesquelles les étendues de mesure sont particulièrement élevées et en cas d'une pré-dilution des échantillons. Par exemple, sur un même analyseur et pour un analyte, le facteur entre la valeur la plus basse et la plus élevée peut être de trente tandis que, pour un autre analyte, ce même facteur peut être supérieur à 1500. Cette vérification permet de rappeler les limites (supérieures et inférieures) au-delà desquelles l'extrapolation des résultats est illicite.

15.8. EVALUATION DE LA STABILITE

L'objectif ici est d'évaluer la stabilité des réactifs "sensibles" "embarqués" à bords des automates. Afin d'étudier cette stabilité, on peut passer chaque standard en tant que spécimen inconnu à intervalle régulier entre J1 et Jnx, nx représentant le nombre de jours de stabilité annoncé par le fabricant. Le nombre de passages entre ces deux dates est fonction de la durée attendue pour obtenir un minimum de 10 résultats.
Des limites de stabilité théoriques (Lst en %, par exemple 20 %) adaptées à chaque analytes (à l'aide des résultats de répétabilité) permettent de valider ou non la stabilité annoncée par le fabricant.

Calculer les valeurs correspondant à – Lst en % et + Lst en % du taux théorique (v).
Vérifier pour chaque mesure du standard mesuré qu'elle est comprise dans l'intervalle [v – Lst %; v + Lst %]. La limite de stabilité est obtenue comme suit:

> **Limite de stabilité = correspond à la dernière valeur comprise dans l'intervalle [v – Lst %; v + Lst %]**

15.9. CORRELATION DE METHODES

Cette corrélation ne peut intervenir qu'après la vérification de la répétabilité, reproductibilité, justesse, inexactitude, et éventuellement de la stabilité, limite de détection et seuil de quantification.

Pour comparer une méthode B que l'on évalue à une méthode A utilisée au laboratoire, on analyse au moins 40 échantillons de patient couvrant l'étendue du domaine physio-pathologique rencontré et répartis si possible selon les recommandations de l'article des Annales de Biologie Cliniques (A. VASSAULT et col., 1999; cf. chapitre 10, Choix préalable à la vérification et chapitre 18, Annexe III - Bibliographie).
Ces échantillons, frais de préférence, sont analysés en simple par les 2 techniques, dans des conditions de temps les plus proches possibles.

Dispositions valides sauf pour impression

Les résultats sont examinés au fur et à mesure, et vérifiés si la discordance est jugée supérieure aux limites préétablies.

Pour chacun des couples retenus xi (méthode A) et yi (méthode B) :

- Calculer les différences $x_i - y_i$
- Calculer les rapports y_i / x_i

Etablir les graphiques des différences, (xi – yi) fonction de xi et (yi / xi) fonction de xi, et reporter les limites retenues en valeur absolue ou relative sur ces graphiques.

Noter le nombre de spécimens discordants identifiés, et rechercher la cause de la discordance si elle subsiste après vérification (aspect, fibrine, hémolyse, etc.),

Remarque : les essais de corrélation en statistiques (régression linéaire) sont prévus pour des variables indépendantes ce qui n'est pas le cas lors d'une validation de technique. Cette dépendance explique les valeurs de "r", coefficient de régression, trouvées qui exceptionnellement permettront de mettre en évidence une différence significative. Il faut donc accorder une valeur toute particulière au graphique des différences et au pourcentage de valeurs discordantes selon une différence acceptable prédéfinie. La répartition des valeurs choisies pour cette corrélation est importante et devra faire l'objet d'une attention particulière.

15.10. VERIFICATION DES VALEURS DE REFERENCE

Les valeurs de référence devront être vérifiées le cas échéant et si possible, par la bibliographie et/ou par calcul statistique.

Ce calcul peut se faire de la manière suivante :

- après une période d'utilisation permettant d'obtenir un nombre de valeurs significatif (et ce pour chaque sexe et tranche d'âge si cela peut avoir une incidence) (n > 100),
- à partir de patients exempts de pathologie (si possible),
- en écartant les valeurs aberrantes,
- en vérifiant que la répartition de la population est gaussienne d'après la bibliographie, ou par calcul,
- Ecarter toutes les valeurs > à m + 2s et < à m – 2s,
- Recalculer la moyenne (moyenne normalisée) m_n et l'écart-type (écart-type normalisé) s_n à partir des valeurs ainsi retenues,

Les valeurs de référence seront données par l'intervalle [$m_n - 2s_n$; $m_n + 2s_n$].

Elles seront comparées avec celles annoncées par le fournisseur. En fonction de cette comparaison, ces valeurs devront être réajustées.

Dispositions valides au jour de l'impression

16. ANNEXE I - REACTOVIGILANCE

Le renforcement du système de vigilance est précisé dans la directive 98/79/CE dans les termes suivants : "Les Etats membres prennent toutes les mesures nécessaires pour que toute information portée à leur connaissance conformément aux dispositions de la présente directive, relative aux incidents mentionnés ci-après qui concernent les dispositifs portant le marquage CE, fasse l'objet d'un enregistrement et d'une évaluation centralisée." (directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro du 27.10.1998, Article 11).

La réactovigilance par essence est destinée à gérer des événements exceptionnels. Pour pouvoir juger du caractère anormal de ces événements, le biologiste pourra entre autres se référer à ses dossiers de validation des méthodes.

En France, la loi de transposition reprend, elle aussi, dans le décret du 4 février 2004 concernant ce principe de libre circulation des produits, le renforcement du système de réactovigilance afin d'assurer la sécurité d'utilisation des DM-DIV (dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*). Notamment elle impose aux professionnels de santé utilisateurs ainsi qu'aux industriels d'alerter l'AFSSAPS de tout incident susceptible d'engendrer un effet néfaste ou un risque d'effet néfaste pour le patient.

Le contrôle s'effectue **a posteriori** notamment grâce à la vigilance exercée par l'utilisateur et/ou le fabricant du DM-DIV. Depuis 1998, et dans le cadre du marquage CE, l'absence de contrôle préalable, pour la plupart des réactifs, doit inciter les utilisateurs à exercer une **vérification des performances sur site** lors de l'utilisation des DM-DIV. Ils ont ainsi un rôle de premier plan à jouer dans la mise en œuvre de la réactovigilance.

Il est joint ci-après, pour information, le formulaire de déclaration de réactovigilance (fiche de signalement de réactovigilance, FIR V.5 AFSSAPS février 2004) émanant de l'AFSSAPS, et disponible sur son site Internet, à l'adresse suivante : http://agmed.sante.gouv.fr/htm/3/3000.htm.

Dispositions valables au jour de l'impression

afssaps
143/147, bd Anatole France
93285 Saint-Denis Cedex
Fax : 01.55.87.42.82

REACTOVIGILANCE

DECLARATION d'un INCIDENT ou RISQUE D'INCIDENT

Cadre réservé à l'AFSSAPS
Numéro
Attributaire
Date d'attribution

Date d'envoi du signalement
|_|_| |_|_| |_|_|_|_|

ENVOI PAR FAX : Si un accusé de réception ne vous est pas parvenu dans les 10 j prière de confirmer le signalement par ENVOI POSTAL AVEC AR

Dispositions valides au jour de l'impression

Le Déclarant

Nom, prénom

Qualité

Adresse professionnelle

|_|_|_|_|_| *code postal* *commune*

E-mail

Téléphone
|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|

Fax
|_|_|_|_|_|_|_|_|_|_|

- •Etablissement de santé
- •EFS
- •Fabricant
- •Mandataire
- •Distributeur
- •LABM privé
- •Autre

L'émetteur du signalement est-il le correspondant de réactovigilance ? Oui ☐ Non ☐

Nom du correspondant :

Tél. :

Fax. :

Le DMDIV concerné (1)

Type de DMDIV

(*) • •réactif • •automate (*)• •autotest
• •récipient pour échantillon • •accessoire • •autre

(*) Dans ce cas merci de **joindre par fax la copie de la notice d'utilisation**

Nom commercial/modèle/type/référence

Domaine d'application

Dénomination commune

N° de série ou de lot

Version logicielle

Date de péremption
|_|_|_|_|_|_|

Date de mise en service
|_|_|_|_|_|_|

Nom et adresse du distributeur

|_|_|_|_|_| *code postal* *commune*

Nom et adresse du fabricant

|_|_|_|_|_| *code postal* *commune*

(1) Si plusieurs DMDIV sont susceptibles d'être concernés remplir une fiche par DMDIV

FIR V.5 Afssaps février 2004

Circonstances et conséquences de l'incident ou du risque d'incident

Date de survenue : ⌊_⌊_⌊_⌊_⌊_⌊_⌋ lieu de survenue :

Nom, qualité, téléphone, fax de l'utilisateur si différent du déclarant

Nature de l'incident

Description des faits et conséquences constatées
(joindre les données chiffrées nécessaires à l'expertise)

Une description plus complète sur papier libre de • •page(s) est jointe à cette fiche

Le fabricant ou fournisseur est-il informé de l'incident ou risque d'incident ?	Si oui , quelle attitude a-t-il préconisée ?
Oui ☐ Non ☐	

Mesure(s) prise(s) par l'utilisateur le cas échéant (mesures conservatoires)

Dispositions valides au jour de l'impression

17. ANNEXE II - TERMINOLOGIE – AUTRES DEFINITIONS

17.1. TERMINOLOGIE

Terme	Définition	Parfois appelé
Biais NF ISO 3534-1	Différence entre l'espérance mathématique des résultats d'analyse et la valeur de référence acceptée. NOTE : Le biais est une erreur systématique totale par opposition à l'erreur aléatoire. Il peut y avoir une ou plusieurs composantes d'erreurs systématiques qui contribuent au biais. Une différence systématique importante par rapport à la valeur de référence acceptée est reflétée par une grande valeur du biais.	Erreur
Calibrage VIM	Positionnement matériel de chaque repère (éventuellement de certains repères principaux seulement) d'un instrument de mesure en fonction de la valeur du mesurande. NOTE : Ne pas confondre « calibrage » et « étalonnage ».	Etalonnage
Coefficient de variation NF ISO 3534-1	Pour un caractère non négatif, rapport de l'écart-type à la moyenne. NOTE : Ce rapport peut être exprimé en pourcentage. Le terme « écart-type relatif » est parfois utilisé à la place de « coefficient de variation », mais cet usage n'est pas recommandé.	
Dérive VIM	Lente variation au cours du temps d'une caractéristique métrologique d'un instrument de mesure.	
Ecart VIM	Valeur moins sa valeur de référence.	
Erreur VIM	Résultat d'un mesurage moins une valeur vraie du mesurande.	Biais
Etalon VIM	Mesure matérialisée, appareil de mesure, matériau de référence ou système de mesure destiné à définir, réaliser, conserver ou reproduire une unité ou une ou plusieurs valeurs d'une grandeur pour servir de référence. Exemples : Etalon de masse 1 kg ; Résistance étalon de 100 □ ; Ampèremètre étalon ; Etalon de fréquence à césium ; Electrode de référence à hydrogène ; Solution de référence de cortisol dans le sérum humain, de concentration certifiée.	

Dispositions valides au jour de l'impression

Etalonnage VIM	Ensemble des opérations établissant, dans des conditions spécifiées, la relation entre les valeurs de la grandeur indiquées par un appareil de mesure ou un système de mesure ou les valeurs représentées par une mesure matérialisée ou par un matériau de référence, et les valeurs correspondantes de la grandeur réalisées par des étalons. NOTES : - le résultat d'un étalonnage permet soit d'attribuer aux indications les valeurs correspondantes du mesurande, soit de déterminer les corrections à appliquer aux indications. - un étalonnage peut aussi servir à déterminer d'autres propriétés métrologiques telles que les effets de grandeur d'influence. - le résultat d'un étalonnage peut être consigné dans un document appelé certificat d'étalonnage ou rapport d'étalonnage.	Calibration
Etendue de mesure VIM	Ensemble des valeurs du mesurande pour lesquelles l'erreur d'un instrument de mesure est supposée comprise entre des limites spécifiées.	Domaine d'analyse, gamme de mesure
Exactitude VIM	Etroitesse de l'accord entre le résultat d'un mesurage et la valeur vraie du mesurande.	Précision
Fidélité VIM	Aptitude d'un instrument de mesure à donner des indications très voisines lors de l'application répétée du même mesurande dans les mêmes conditions de mesure. NOTES : Ces conditions comprennent : Réduction au minimum des variations dues à l'observateur Même mode opératoire de mesure Même observateur Même équipement de mesure, utilisé dans les mêmes conditions Même lieu Répétition durant une courte période de temps. La répétabilité peut s'exprimer quantitativement à l'aide des caractéristiques de dispersion des indications.	Précision
Incertitude VIM	Paramètre, associé au résultat d'un mesurage, qui caractérise la dispersion des valeurs qui pourraient raisonnablement être attribuées au mesurande. NOTES : Le paramètre peut-être, par exemple, un écart-type (ou un multiple de celui-ci) ou la demi-largeur d'un intervalle de niveau de confiance déterminé. L'incertitude de mesure comprend, en général, plusieurs composantes. Certaines peuvent être évaluées à partir de la distribution statistique des résultats de séries de mesurages et peuvent être caractérisées par des écart-types expérimentaux. Les autres composantes, qui peuvent aussi être caractérisées par des écart-types, sont évaluées en admettant des distributions de probabilité, d'après l'expérience acquise ou d'après d'autres informations. Il est entendu que le résultat du mesurage est la meilleure estimation de la valeur du mesurande, et que toutes les composantes de l'incertitude, y compris celles qui proviennent d'effets systématiques, telles que les composantes associées aux corrections et aux étalons de référence, contribuent à la dispersion.	
Justesse VIM	Aptitude d'un instrument de mesure à donner des indications exemptes d'erreur systématique.	

Dispositions valides au jour de l'impression

Limite de détection XP T 90-210	Plus petite quantité d'un analyte à examiner dans un échantillon, pouvant être détectée et considérée comme différente de la valeur du blanc(avec une probabilité donnée),mais non nécessairement quantifiée. En fait, il faut prendre en compte deux risques : - le risque α de considérer la substance présente dans l'échantillon alors que sa grandeur est nulle ; - le risque β de considérer absente une substance alors que sa grandeur n'est pas nulle.	
Limite de quantification XP T 90-210	Plus petite grandeur d'un analyte à examiner dans un échantillon pouvant être déterminé quantitativement dans des conditions expérimentales décrites dans le méthode avec une variabilité définie (coefficient de variation déterminé).	
Linéarité XP T 90-210	Capacité d'une méthode d'analyse, à l'intérieur d'un certain intervalle, à fournir une valeur d'information ou des résultats proportionnels à la quantité en analyte à doser dans l'échantillon pour laboratoire. Cette proportionnalité s'exprime au travers d'une expression mathématique définie a priori. Les limites de linéarité sont les limites expérimentales de grandeurs entre lesquelles un modèle d'étalonnage linéaire peut être appliqué avec un niveau de confiance connu (généralement pris égal à 1 %).	
Matériau de référence VIM	Matériau ou substance dont une (ou plusieurs) valeur(s) de la (des) propriété(s) est (sont) suffisamment homogène(s) et bien définie(s) pour permettre de l'utiliser pour l'étalonnage d'un appareil, l'évaluation d'une méthode de mesurage ou l'attribution de valeurs aux matériaux.	Calibrateur, valeurs de référence
Matériau de référence certifié VIM	Matériau de référence, accompagné d'un certificat, dont une (ou plusieurs) valeur(s) de la (des) propriété(s) est (sont) certifiée(s) par une procédure qui établit son raccordement à une réalisation exacte de l'unité dans laquelle les valeurs de propriété sont exprimées et pour laquelle chaque valeur certifiée est accompagnée d'une incertitude à un niveau de confiance indiqué.	
Mesurage VIM	Ensemble d'opérations ayant pour but de déterminer une valeur d'une grandeur.	
Mesurande VIM	Grandeur particulière soumise à mesurage.	

Disposition valable au jour de l'impression

Répétabilité VIM	Etroitesse de l'accord entre les résultats des mesurages successifs du même mesurande, mesurages effectués dans la totalité des mêmes conditions de mesure. NOTE : Ces conditions sont appelées conditions de répétabilité. Les conditions de répétabilité comprennent : Même mode opératoire Même observateur Même instrument de mesure utilisé dans les mêmes conditions Même lieu Répétition durant une courte période de temps. La répétabilité peut s'exprimer quantitativement à l'aide des caractéristiques de dispersion des résultats.	
Reproductibilité VIM	Etroitesse de l'accord entre les résultats des mesurages du même mesurande, mesurages effectués en faisant varier les conditions de mesure. NOTE : Pour qu'une expression de la reproductibilité soit valable, il est nécessaire de spécifier les conditions que l'on fait varier. Les conditions que l'on fait varier peuvent comprendre : Méthode de mesure, Observateur, Instrument de mesure, Étalon de référence, Lieu, Conditions d'utilisation, Temps. La reproductibilité peut s'exprimer quantitativement à l'aide des caractéristiques de dispersion des résultats. Les résultats considérés ici sont habituellement les résultats corrigés.	
Spécificité XP T 90-210	Propriété d'une méthode d'analyse de convenir exclusivement à la détermination de la grandeur de l'analyte considéré.	
Vérification NF EN ISO 10012	Confirmation par examen et établissement des preuves que les exigences spécifiées ont été satisfaites. NOTE : dans le cadre de la gestion d'un parc d'instruments de mesure, la vérification permet de s'assurer que les écarts entre les valeurs indiquées par un appareil de mesure et les valeurs connues correspondantes d'une grandeur mesurées sont tous inférieurs aux erreurs maximales tolérées, définies par une norme, par une réglementation ou une prescription propre au gestionnaire du parc d'instruments de mesure. Le résultat d'une vérification se traduit par une décision de remise en service, d'ajustage, de réparation, de déclassement ou de réforme.	

Dispositions valables au jour de l'impression

17.2. AUTRES DEFINITIONS

D'autres définitions sont proposées ci-après. Leur connaissance permet de mieux comprendre les objectifs de la validation et les éléments permettant de l'effectuer.

Ces définitions ont été reprises à partir de documents qui font références ; parmi ceux-ci nous rappellerons plus particulièrement la norme "Vocabulaire international des termes fondamentaux et généraux de métrologie" (VIM), la norme "Vocabulaire et symboles", NF ISO 3534-1, la DÉCISION DE LA COMMISSION du 7 mai 2002 portant spécifications techniques communes des dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* [notifiée sous le numéro C(2002) 1344], texte présentant de l'intérêt pour l'EEE (2002/364/CE) et le dictionnaire des termes à l'usage de la validation des techniques de la Société Française de Biologie Clinique.

Acceptabilité, critères d' (Performance standard) : Critères selon lesquels les performances d'une technique sont jugées satisfaisantes dans les conditions d'emploi définies par l'utilisateur (ces critères s'appuient en particulier sur les concepts d'imprécision, d'inexactitude et d'erreur totale acceptable).

Analyse, (Domaine d') : Intervalle de concentrations (ou autres quantités) d'un analyte pour lequel la technique est applicable sans modification. Son évaluation nécessite l'établissement des limites de linéarité et (éventuellement) de la limite de détection de la technique. Synonyme : "domaine de mesurage, gamme de mesure".

Analyte : Composant, substance, matériau à mesurer dans un milieu éventuellement complexe (voir milieu).

Blanc du spécimen : Signal imputable à certaines propriétés du milieu dans lequel se trouve l'analyte. Dans le cas idéal, il résulte d'une mesure de signal effectuée dans les conditions de la réaction sur l'échantillon ne contenant pas l'analyte ou sur l'échantillon après élimination ou inactivation de l'analyte.

Blanc réactif : Correspond au signal imputable au(x) réactif(s) utilisé(s) lors d'un dosage ou d'une mesure d'activité catalytique. L'échantillon est remplacé par un égal volume d'un solvant approprié.
Bruit de fond : Correspond aux variations aléatoires du signal de mesure pour un niveau donné. Il est mesuré par l'écart-type d'une suite d'au moins 30 mesures du signal, au niveau considéré.

Calibrateur ou "calibrant" : Matériau de concentration déterminée en analyte soit par pesée, soit par titrage dont le milieu et les propriétés sont imparfaitement connus. Il peut présenter des propriétés physico-chimiques nécessitées par une technique.

Caractérisation (évaluation) : étude visant à éprouver le protocole d'analyse (procédure analytique) afin de connaître les valeurs des critères de performance, retenus au préalable. Cette étude peut être menée en intralaboratoire (par le fournisseur ou le fabricant) ou en interlaboratoire.

Coefficient de corrélation : Quotient de la covariance de deux caractères par le produit de leurs écarts-types.
NOTE : Il exprime la relation éventuelle entre deux variables réputées indépendantes. Sa valeur doit être uniquement testée par rapport à zéro en fonction d'un risque α choisi. Il est habituellement sans intérêt dans les comparaisons de techniques.

Contaminant, (Effet) : Effet indésirable, résultant de la contamination. Le plus souvent, il s'agit de l'effet exercé par un sérum sur celui qui le suit ou qui le précède. Il peut également survenir des effets contaminants entre réactifs.

Correction : valeur ajoutée algébriquement au résultat brut d'un mesurage pour compenser une erreur systématique.
NOTES :
- la correction est égale à l'opposé de l'erreur systématique estimée.
- puisque l'erreur systématique ne peut pas être connue parfaitement la compensation ne peut pas être complète.

Dispositions valides au jour de l'impression

Critères de performance : paramètre caractérisant la procédure analytique (linéarité, fidélité, justesse, …)

Cut Off : Ce que l'on appelle communément le "cut-off" est la valeur du Z-score (nombre de déviations standards par rapport à la normale) au-delà de laquelle les résultats sont susceptibles de présenter un intérêt biologique. Souvent, cette valeur est déterminée de manière expérimentale par les biologistes.

Ecart-type de la moyenne, s.e.m.("Standard deviation of the mean") : Paramètre statistique indiquant la dispersion des valeurs au niveau de la moyenne d'une série de mesures.

Erreur aléatoire : Résultat d'un mesurage moins la moyenne d'un nombre infini de mesurages du même mesurande, effectués dans des conditions de répétabilité.
NOTES :
- l'erreur aléatoire est égale à l'erreur moins l'erreur systématique.
- comme on ne peut faire qu'un nombre fini de mesurages, il est seulement possible de déterminer une estimation de l'erreur aléatoire.

Erreur de justesse (d'un instrument de mesure) : erreur systématique d'indication d'un instrument de mesure.
NOTE : L'erreur de justesse est normalement estimée en prenant la moyenne de l'erreur d'indication sur un nombre approprié d'observations répétées.

Erreur systématique : moyenne qui résulterait d'un nombre infini de mesurages du même mesurande, effectués dans les conditions de répétabilité, moins une valeur vraie du mesurande.
NOTES :
- l'erreur systématique est égale à l'erreur moins l'erreur aléatoire.
- comme la valeur vraie, l'erreur systématique et ses causes ne peuvent être connues complètement.
- pour un instrument de mesure, voir "erreur de justesse".

Evaluation selon une méthode de type A (de l'incertitude) : méthode d'évaluation de l'incertitude par l'analyse statistique de séries d'observations.

Evaluation selon une méthode de type B (de l'incertitude) : méthode d'évaluation par des moyens autres que l'analyse statistique de séries d'observations.

Etat de l'art, (Performance de l') : Désigne la qualité des méthodes analytiques actuellement disponibles. Celle-ci est habituellement estimée à partir d'enquêtes inter laboratoires.

Facteur d'élargissement : facteur numérique utilisé comme multiplicateur de l'incertitude-type composée pour obtenir l'incertitude élargie.
NOTE : Un facteur d'élargissement *k* a sa valeur généralement de 2, parfois 3.

Incertitude-type : incertitude du résultat d'un mesurage exprimée sous la forme d'un écart-type.

Incertitude-type composée : incertitude-type du résultat d'un mesurage, lorsque ce résultat est obtenu à partir des valeurs d'autres grandeurs, égal à la racine carrée d'une somme de termes, ces termes étant les variances ou covariance de ces autres grandeurs, pondérés selon la variation du résultat de mesure en fonction de celle de ces grandeurs

Dispositions valides au jour de l'impression

Incertitude élargie : grandeur définissant un intervalle, autour du résultat d'un mesurage, dont on puisse s'attendre à ce qu'il comprenne une fraction élevée de la distribution des valeurs qui pourraient être attribuées normalement au mesurande.
NOTES :
- la fraction peut être considérée comme la probabilité ou le niveau de confiance de l'intervalle.
- l'association d'un niveau de confiance spécifique à l'intervalle défini par l'incertitude élargie nécessite des hypothèses explicites ou implicites sur la loi de probabilité caractérisée par le résultat de mesure et son incertitude-type composée. Le niveau de confiance qui peut être attribué à cet intervalle ne peut être connu qu'avec la même validité que celle qui se rattache à ces hypothèses.
- l'incertitude élargie est parfois appelée incertitude globale.

Matrice : Milieu dans lequel se trouve l'analyte.

Moyenne, m : Quotient de la somme des observations par leur nombre. Sauf indication contraire, le terme "moyenne" désigne la valeur arithmétique.

Résultat d'un mesurage : valeur attribuée à un mesurande, obtenue par mesurage.

Robustesse : Par "robustesse" d'une technique d'analyse, on entend une mesure de sa capacité à ne pas être affectée par des variations faibles mais délibérées des paramètres de la méthode, et qui fournit une indication sur sa fiabilité dans les conditions normales d'utilisation.

Sensibilité (diagnostique) : La probabilité qu'un dispositif donne un résultat positif en présence du marqueur cible.

Sensibilité analytique : Aux fins de l'application des spécifications techniques communes (STC), on entend par "sensibilité analytique" la limite de détection, soit la plus petite quantité de marqueur cible pouvant être détectée avec précision.

Sensibilité d'une technique : Rapport de la variation de signal mesuré à l'unité de concentration de l'analyte étudié.

Spécificité analytique : La capacité de la méthode à déterminer uniquement le marqueur cible.

Spécificité chimique, spécificité : Propriété que représente une méthode analytique de pouvoir déterminer sélectivement la concentration du ou des composants qu'elle est supposée mesurer.

Spécificité (diagnostique) : La probabilité qu'un dispositif donne un résultat négatif en l'absence du marqueur cible.

Spécimen : Pour éviter une confusion avec le terme échantillon (au sens : groupe d'individus extrait d'une population), il est préférable de parler de spécimen pour désigner un prélèvement biologique (spécimen de sang, spécimen d'urines...).

Technique de référence (Méthode de référence) : Technique reconnue au niveau international dont l'exactitude a été évaluée par rapport à une technique définitive ou, à

Dispositions valides au jour de l'impression

défaut, après une étude complète et détaillée. Le principe, les réactifs, les appareils, le protocole opératoire et les calculs sont exactement décrits.

Technique de validation : Une technique de validation est une technique, qui, après étude exhaustive (recherche bibliographique et expérimentale), est retenue pour être utilisée comme référence d'exactitude, pour des essais comparatifs ou des titrages de sérums de contrôle.
Elle est choisie parmi les techniques de référence ou sélectionnées par des sociétés nationales ou internationales ou, à défaut, par consensus. Elle présente une précision et une praticabilité acceptables et connues.
Elle doit être soigneusement décrite, testée dans plusieurs laboratoires et comporter la définition du matériel, le contrôle de l'appareillage nécessaire, la description des différents réactifs et spécifications, les conditions de conservation et d'utilisation des réactifs, le protocole opératoire, le mode d'étalonnage ou de calibrage, la nature des calibrateurs et le mode de contrôle.

Traçabilité (VIM) : propriété du résultat d'un mesurage ou d'un étalon tel qu'il puisse être relié à des références déterminées, généralement des étalons nationaux ou internationaux, par l'intermédiaire d'une chaîne ininterrompue de comparaisons ayant toutes des incertitudes déterminées.
NOTES :
- ce concept est souvent exprimé par l'adjectif traçable.
- la chaîne ininterrompue de comparaisons est appelée chaîne de raccordement aux étalons ou chaîne d'étalonnage.
- la manière dont s'effectue la liaison aux étalons est appelé raccordement aux étalons.

Traçabilité (ISO 9000 : 2000) : aptitude à retrouver l'historique, la mise en oeuvre ou l'emplacement de ce qui est examiné.

Valeur conventionnellement vraie (d'une grandeur) : Valeur attribuée à une grandeur particulière et reconnue, parfois par convention, comme la représentant pour une incertitude appropriée pour un usage donné.

Valeurs de référence : Résultats obtenus pour un constituant donné dans une population de référence dont les individus sont exempts de pathologie ou de traitement susceptibles de modifier leurs valeurs.
Les valeurs de référence peuvent varier notamment en fonction de l'origine géographique, du sexe et de l'âge des individus. Elles sont exprimées généralement en tenant compte des limites inférieures et supérieures déterminées par étude statistique. Elles peuvent être établies par le biologiste, en fonction des techniques analytiques qu'il utilise, ou éventuellement vérifiées lorsqu'il emploie les données des publications scientifiques.
L'expression "valeur de référence" est préférable à celles de "valeur usuelle" ou de "valeur normale".

Validation (analytique et biologique) : C'est l'ensemble des procédures à mettre en oeuvre pour s'assurer qu'une technique présente la fiabilité requise pour répondre aux exigences de qualité dans l'état de l'art.
La validation comporte généralement deux étapes : une validation technique et une validation biologique. La première consiste, à l'issue d'une série de dosages, à vérifier par des contrôles appropriés que les principales erreurs ont été maintenues dans des limites acceptables. La seconde consiste à s'assurer de la cohérence du résultat en le remplaçant

Dispositions valables au jour de l'impression

dans son contexte clinique, en le comparant à d'éventuels résultats antérieurs et en le confrontant aux résultats d'autres analyses demandées pour explorer la même fonction.

Validation (Validation des méthodes) : étape de vérification consistant à comparer les valeurs des critères de performance telles que déterminées au cours de l'étude de caractérisation ou de mise en œuvre expérimentale (phase de test) de la méthode analytique à celles attendues ou assignées au préalable (limites acceptables, objectifs à atteindre), puis à déclarer la méthode d'analyse valide ou non valide (cf. définition de la norme NF EN ISO/CEI 17025, § 5.4.5.1; chapitre 7 de ce document, Avant-propos).

Dispositions valides au jour de l'impression

18. ANNEXE III - BIBLIOGRAPHIE

Références réglementaires

Arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale. (GBEA) J.O. Numéro 287 du 11 décembre 1999, page 18441 (NOR : MESP9923609A).

Directive 98/79/CE du Parlement européen et du Conseil, du 27 octobre 1998, relative aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* (http://www.lne.fr/fr/essais/essais_conformite/essais_conformite.shtml).

Décret n° 2004-108 du 4 février 2004 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* et modifiant le code de la santé publique (deuxième partie : Décrets en Conseil d'Etat): J.O. du 6 février 2004, page 2577, NOR: SANP0324626D.

Décret n° 2002-637 du 29 avril 2002 relatif à l'accès aux informations personnelles détenues par les professionnels et les établissements de santé en application des articles L. 1111-7 et L. 1112-1 du code de la santé publique: J.O n° 101 du 30 avril 2002, page 7790, NOR: MESP0221143D.

Essential Criteria for Quality Systems of Medical Laboratories (Eur J Clin Chem Clin Biochem 1997; 35(2): 123-132 © 1997) Walter de Gruyter Berlin New York.

DÉCISION DE LA COMMISSION du 7 mai 2002 portant spécifications techniques communes des dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* [notifiée sous le numéro C(2002) 1344], Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE (2002/364/CE).

CLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendments) regulation, (www.westgard.com/cliafinalrule4.htm).

Références normatives générales

Prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais. NF EN ISO/CEI 17025: Mai 2000 (AFNOR).

Laboratoires d'analyses de biologie médicale – Exigences particulières concernant la qualité et la compétence. NF EN ISO 15189: Octobre 2003 (AFNOR).

Normes fondamentales - Vocabulaire des termes fondamentaux et généraux de métrologie (VIM). NF X 07-001: Décembre 1994 (AFNOR).

Statistique - Vocabulaire et symboles - Partie 1 : probabilité et termes statistiques généraux. NF ISO 3534-1: Décembre 1993 (AFNOR).

Métrologie – Systèmes de management de la mesure – Exigences pour les processus et les équipements de mesure. NF EN ISO 10012 : Septembre 2003 (AFNOR).

Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure (GUM). NF ENV 13005: Août 1999 (AFNOR).

Dispositions valides au jour de l'impression

Application de la statistique - Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure - Parties 1-6. NF ISO 5725: Décembre1994 et rectificatifs techniques (AFNOR).

Normes fondamentales - Métrologie et applications de la statistique - Aide à la démarche pour l'estimation et l'utilisation de l'incertitude des mesures et des résultats d'essais. FD X07-021: Octobre 1999 (AFNOR).

Estimer l'incertitude, Mesures et Essai. C. Perruchet et M. Priel, 2000, (AFNOR).

Lignes directrices relatives à l'utilisation d'estimations de la répétabilité, de la reproductibilité et de justesse dans l'évaluation de l'incertitude de mesure. ISO/TS 21748: Mars 2004 (AFNOR).

Systèmes de management de la qualité - Principes essentiels et vocabulaire. NF EN ISO 9000 : Décembre 2000 (AFNOR).

Documentation Cofrac - EA

Document Cofrac LAB REF 02, "Accréditation des laboratoires selon la norme NF EN ISO/CEI 17025 – Prescriptions".

Document Cofrac LAB LABM REF 02, "Accréditation des Laboratoires d'Analyses de Biologie Médicale selon la norme NF EN ISO 15189 – Prescriptions", en projet à la date de parution de ce guide.

Documents Cofrac d'accréditation Cofrac en Biologie Médicale (Programmes n° 143, 145, 147, 155 et 168, respectivement, Analyses en Biochimie, Analyses en Hématologie, Analyses en Immunologie, Analyses en Bactériologie, et Analyses en Toxicologie et suivi thérapeutique pharmacologique).

Document Cofrac LAB REF 05, "Règlement d'accréditation", document décrivant le processus d'accréditation des laboratoires par le Cofrac.

Document Cofrac LAB LABM REF 04, "Accréditation des Laboratoires d'Analyses de Biologie Médicale suivant la norme ISO 15189 - Politique Cofrac".

Document Cofrac LAB Inf 09 (1133), "Procédure de validation interne des méthodes d'essais".

Document EA-4/16 "Lignes directrices d'EA pour l'expression de l'incertitude des résultats d'essais quantitatifs".

Validation des méthodes

The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. Eurachem Guides (1998).

A WHO guide to good manufacturing practice requirements - Part 2: Validation. World Health Organisation (1997).

Dispositions valables au jour de l'impression

Qualité de l'eau - Protocole d'évaluation d'une méthode alternative d'analyse physico-chimique quantitative par rapport à une méthode de référence. XP T 90-210: Décembre 1999 (AFNOR).

Radioprotection - Critères de performance pour l'analyse radiotoxicologique - Partie 1 : principes généraux. NF ISO 12790-1: Mars 2002 (AFNOR).

Validation des procédures analytiques quantitatives – Harmonisation des démarches. SFSTP. STP Pharma Prat mai/juin 2003, vol. 13 (3): 101-138.

Guide de validation analytique. SFSTP. STP Pharma Prat 1992, vol. 2: 205-226.

Méthodes chromatographiques de dosage dans les milieux biologiques: stratégie de validation. SFSTP. STP Pharma Prat 1997, vol. 7: 169-194.

Validation of Analytical Procedures Q2A - FDA ICH Harmonised Tripartite Guideline, International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use (ICH ou Q2A).

Validation of Analytical Procedures: Methodology Q2B - FDA ICH Harmonised Tripartite Guideline, International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use (ICH ou Q2B).

Preparation and harmonisation of guidelines for in-house method validation. 1999-006-1-500, IUPAC.

Analyse des produits agricoles et alimentaires - Procédure de validation intra-laboratoire d'une méthode alternative par rapport à une méthode de référence - Cas de méthodes d'analyse quantitatives. NF V03-110: Décembre 1998 (AFNOR).

Analyse des produits agricoles et alimentaires - Protocole d'évaluation intra-laboratoire d'une méthode alternative d'analyse qualitative par rapport à une méthode de référence. XP V03-111: Octobre 1995 (AFNOR).

Analyse des produits agricoles et alimentaires - Guide pour l'utilisation des matériaux de référence. FD V03-115: Juillet 1996 (AFNOR).

Microbiologie des aliments - Protocole pour la validation des méthodes. EN ISO 16140: Octobre 2003 (AFNOR).

Évaluation des performances des dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*. NF EN 13612: Septembre 2002 (AFNOR).

Guide pratique pour la validation, le contrôle qualité, et l'estimation de l'incertitude d'une méthode d'analyse œnologique usuelle. M. M Dubernet (juin 2003) FV 1189, OIV.

La validation des méthodes d'analyse. M. Feinberg, 1996, Edition Masson.

Guide EURACHEM/CITAC, Quantifier l'incertitude dans les mesures analytiques (2eme édition), 2000 (www.lne.fr).

Dispositions valides au jour de l'impression

Validation des méthodes en Biologie Médicale

Analyses de biologie médicale : spécification et normes d'acceptabilité à l'usage de la validation des techniques. A. Vassault, D. Grafmeyer, J. de Graeve, R. Cohen, A. Beaudonnet, J. Bienvenu. Ann Biol Clin 1999, 57 : 685-95.

Formation continue conventionnelle des directeurs de laboratoires privés d'Analyses de Biologie Médicale. Cahier de formation. Biochimie. Tome I. Validation de techniques pp 17-36, 1992.

Protocole de validation de techniques (Protocole Valtec) - Document B. Ann. Biol. Clin 44, 686-745. Vassault A., Grafmeyer D., Naudin C., Dumont G., Bailly M., Henny J., Gerhardt MF., Georges P. et les membres de la commission de Validation de techniques de la SFBC (1986).

Dictionnaire des termes à l'usage de la validation des techniques, Commission validation de technique SFBC, Ann Biol Clin 1986, 44: 679-85.

Le protocole Valtec: évolution du concept et du contenu. Ann. Biol. Clin 1997, 55 : 167-173.

Guidelines for the evaluation of analyzers in clinical chemistry ECCLS Document 3 n°2. Haeckel R, Busch EW, Jennings RD, Truchaud A (1986) Beuth Verlag Berlin.

Proposed quality specifications for the acceptability of analytical systems for clinical chemistry. Fraser CG, Hyltoft Petersen P, Ricos C, Haeckel R. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1992, 30 : 311- 317.

Procédure de validation d'une technique. Spectra Biologie 1997, 16 (90) : 43-50.

CUMITECH report: Verification and validation of procedures in the clinical microbiology laboratory. Americal Society for Microbiology, February 1997.

NCCLS Guidelines: EP-10-T 1989 (clinical chemistry). LA1-A2 1994 (radioimmunoassays). EP5-T2 1992 (clinical chemistry analysers).

The evaluation kit for clinical chemistry: a practical guide for the evaluation of methods, instruments and reagents kits. White GH and Fraser CG. J. of Automatic Chemistry 1984, 6(3) : 122-148.

Dosage de l'homocystéine plasmatique par chromatographie liquide haute performance et comparaison à deux autres techniques, F. Ceppa, I. Drouillard, D. Chianea, P. Burnat, F. Perrier, C. Vaillant, Y. El Jahiri. Ann Biol Clin 1999, 57 : 474-80.

Evaluation de la numération des réticulocytes sur automate Cell-Dyn 3500® : comparaison avec une technique par cytométrie en flux. C. Alvarez, C. Chabert, P. Quillet, H. Baufine-Ducrocq. Ann Biol Clin 1997, 55 : 215-221.

A reference method laboratory network for cholesterol : a model for standardization improvement of clinical laboratory measurements de Gary L. MYERS, Mary M. KIMBERLY, Parvin P. WAYMACKS, S. Jay SMITH, Gerald R. COOPER, and Eric J. SAMPSON. Clinical Chemistry 46 (11) : 1762-1772.

Dispositions valables au jour de l'impression

Evaluation de l'automate Axsym. C. Duval Annales de Biologie Clinique 2001, 59 n° spécial : 48-51.

Evaluation d'un nouvel automate de cytologie sanguine : l'Advia 70. V. Siguret, N. Hanna, I. Gouin, P. de Guetonny, C. Chevance, J.-P. Andreux, Ann Biol Clin 2002, 60 : 541-8.

Evaluation de l'accord entre trios automates d'hématologie. F. Hennouchi, S. Anselme Martin, V. Chanteperdrix, N. Roux Bouisson, B. Polack, P. Mossuz. Ann Biol Clin 2002, 60 : 351-5.

Performance evaluation of the Abbott Cell-Dyn 1800 automated hematology analyzer. Kendall R, Benoit E, Bogiages J, Bordenkircher R, Caple K, Chen LL, Cheng T, Hoshino T, Kelley J, Ngo N, Schisano T, Stevenson P, Tsou C, Yang JP. Lab Hematol. 2003, 9(3) : 143-52.

Standardisation of platelet counting accuracy in blood banks by reference to an automated immunoplatelet procedure: comparative evaluation of Cell-Dyn CD4000 impedance and optical platelet counts. Johannessen B, Haugen T, Scott CS. Transfus Apheresis Sci. 2001, 25(2) : 93-106.

The Advia 120 red blood cells and reticulocyte indices are useful in diagnosis of iron-deficiency anemia. Kotisaari S, Romppanen J, Penttila I, Punnonen K. Eur J Haematol. 2002, 68(3) : 150-6.

Platelet count and parameters determined by the Bayer ADVIA 120 in reference subjects and patients. Giacomini A, Legovini P, Gessoni G, Antico F, Valverde S, Salvadego MM, Manoni F. Clin Lab Haematol. 2001, 23(3) : 181-6.

Evaluation of the Beckman Coulter HmX hematology analyser at a general hospital. Darnige L, Cluet-Dennetiere S, Delavenne J, Belaouni H, Fourcade C. Ann Biol Clin 2002, 60(1) : 47-55.

Performance evaluation of the Coulter LH 750 Hematology Analyser. Fernandez T., Bessert Domack I., Montes D., Pineiro R., Landrum E., Vital E. Laboratory Hematology, 7 : 217-228.

Platelets counts and flagging rates from the LH 750 Hematology Analyser compared with the ICSH/ISLH platelet reference method and the GEN.S Hematology Analyser. Keeney M, Brown W., Chen Yee I. Laboratory Hematology, 7 : 204-210.

White blood cell flagging rates of the Coulter LH 750 Hematology Analyser compared with the GEN.S Hematology Analyser. Chen Yee I., Keeney M., Johnson K., Wolfe N., Brown W., Kaplan S. Laboratory Hematology, 7 : 211-216.

Workflow improvement with random access and enhanced flagging on the new Coulter LH 750 Hematology Analyser. Brown W., Kaplan S., Keeney M., Johnson K., Wolfe N., Chen Yee I. Laboratory Hematology, 7 : 229-235.

The new hematology analyzer Sysmex XE-2100: performance evaluation of a novel white blood cell differential technology. Ruzicka K, Veitl M, Thalhammer-Scherrer R, Schwarzinger I. Arch Pathol Lab Med. 2001, 125(3) : 391-6.

Disposition valides à ajouter de l'impression

Laboratory evaluation of the Sysmex SE-9500 automated haematology analyser. Peng L, Gao X, Jiang H, Peng Z, Su J. Clin Lab Haematol. 2001, 23(4) : 237-42.

Determination of peripheral blood stem cells by the Sysmex SE-9500. Peng L, Yang J, Yang H, Peng Z, Xu C, Liu T. Clin Lab Haematol. 2001, 23(4) : 231-6.

Development and clinical application of nucleated red blood cell counting and staging on the automated haematology analyser XE-2100. Wang FS, Itose Y, Tsuji T, Hamaguchi Y, Hirai K, Sakata T. Clin Lab Haematol. 2003, 25(1) : 17-23.

Selection and implementation for coagulation instruments/reagents in a multiple hospital/clinic network. Cary E. R., Fink M., Stokes S. L., Simmons V. L., Kaczor D. A., Harmon S., Qualres L., Escobar C. Joiner Maier D. Blood Coag Fibrin 2000, 11(7) : 599-608.

Sites Internet

James O. Westgard, PhD, www.westgard.com

Ph. Marquis, www.multiqc.com.

Cofrac, Comité Français d'Accréditation, www.cofrac.fr

AFNOR, Association Française de Normalisation, www.afnor.fr

ANAES, Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé, www.anaes.fr

EA, European co-operation for Accréditation, www.european-accreditation.org

Dispositions valides au jour de l'impression

LES CONTROLES DE LA QUALITE ANALYTIQUE EN BIOLOGIE MEDICALE

Document LAB GTA 06

Révision 00 – Juillet 2005

Valide au jour de l'impression

Section Laboratoires

SOMMAIRE

1 OBJET DU DOCUMENT 3
2 DEFINITIONS 4
3 DOMAINE D'APPLICATION 4
4 MODALITES D'APPLICATION 4
5 SYNTHESE DES MODIFICATIONS 4
6 MODALITE DE REEXAMEN 4
7 ETAT DES LIEUX – CONTEXTE REGLEMENTAIRE ET NORMATIF 5
8 INFORMATIONS PERTINENTES A CONNAITRE POUR LA MISE EN ŒUVRE D'UN CONTRÔLE DE QUALITE 7
8.1 Les différents types d'analyses 7
8.2 Les différents types de contrôle de qualité - Définitions 7
8.3 Choix préalable à la mise en place d'un contrôle de la qualité analytique 8
9 CONTROLE DE QUALITE D'UNE METHODE D'ANALYSE QUANTITATIVE 9
9.1 Objectifs du contrôle de Qualité 9
9.2 Organisation d'un contrôle de Qualité 10
9.3 Mise en œuvre du Contrôle de Qualité 12
9.4 Programme de Contrôle Qualité interlaboratoire 12
9.5 Contrôle de Qualité et incertitudes de mesure 13
9.6 Exemples méthodologiques 13
10 CONTROLE DE QUALITE D'UNE METHODE D'ANALYSE QUALITATIVE 23
10.1 Objectifs du contrôle de Qualité 23
10.2 Organisation d'un contrôle de Qualité 23
10.3 Exemples méthodologiques 23
11 CONTROLE DE QUALITE D'UNE METHODE D'ANALYSE ASSIMILABLE AU QUANTITATIF A RESULTAT QUALITATIF (SEMI-QUANTITATIF) 31
11.1 Objectifs du contrôle de Qualité 31
11.2 Organisation d'un contrôle de Qualité 31
11.3 Exemples méthodologiques 31
12 MAITRISE DE LA DOCUMENTATION - METHODOLOGIE 39
13 ANNEXE I – TABLEAUX DES SPECIFICATIONS POUR LES PRINCIPALES ANALYSES 40
13.1 Tableaux pour les principaux analytes de Biochimie (Vassault *et al.*, SFBC) 40
13.2 Tableaux pour les principaux analytes de Biologie Médicale (Ricos *et al.*) 40
13.3 Tableaux pour les principales analyses de Biologie Médicale (CLIA) 40
14 ANNEXE II - DEFINITIONS 41
15 ANNEXE III - BIBLIOGRAPHIE 42
15.1 Références réglementaires 42
15.2 Références normatives générales 42
15.3 Documentation Cofrac - EA 43
15.4 Contrôle de qualité 43
15.5 Contrôle de qualité en Biologie Médicale 43
15.6 Sites Internet 45

Version au jour de l'impression

1 OBJET DU DOCUMENT

La norme NF EN ISO/CEI 17025 définit les prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages, d'essais et d'analyses; la norme NF EN ISO 15189 définit quant à elle les exigences particulières concernant la qualité et la compétence, pour les laboratoires d'analyses de biologie médicale.

Le présent guide technique définit les recommandations résultant de l'application de ces deux normes, NF EN ISO/CEI 17025 et NF EN ISO 15189, aux domaines de compétences recensées au chapitre 3.

Ces recommandations, que le laboratoire est libre d'appliquer, sont celles reconnues comme étant les plus appropriées par le Cofrac pour répondre aux prescriptions et exigences des normes NF EN ISO/CEI 17025 et NF EN ISO 15189. Dans tous les cas, le laboratoire devra démontrer que les dispositions prises permettent de satisfaire pleinement la norme.

Ce guide s'adresse :

- aux Laboratoires d'Analyses de Biologie Médicale (LABM) engagés dans une démarche d'accréditation Cofrac selon la norme NF EN ISO/CEI 17025 ou NF EN ISO 15189 ; dans ce cas il représente des recommandations fortes, toute autre démarche argumentée et documentée étant cependant acceptable ;
- aux auditeurs du Cofrac, et constitue une base d'harmonisation à leur usage ;
- aux fournisseurs pour comprendre et aider les biologistes dans leur démarche.
- de façon plus générale à tout biologiste (quelle que soit sa spécialité) soucieux d'avoir une référence en contrôle de qualité.

Ce guide a pour but d'expliciter les aspects du contrôle de la qualité analytique en Biologie Médicale. Il constitue un guide pratique d'aide à la mise en place des contrôles de la qualité analytique en Biologie Médicale. Ce contrôle de la qualité analytique s'inscrit alors dans une vérification continue des performances lors de l'utilisation (routine) dans le laboratoire du couple équipements-réactifs, afin d'apporter au biologiste confirmation et preuve permanentes de la validité des résultats rendus, par rapports à ses propres besoins et ceux de ses clients. Ce contrôle de qualité est à prendre en termes de maîtrise du processus analytique, au niveau continu.

Le contrôle de qualité constitue la validation continue du processus analytique et fait suite à la validation initiale de la méthode (cf. document Cofrac "Guide de validation des méthodes en Biologie Médicale", LAB GTA 04)

Le contrôle de qualité analytique devra s'envisager en fonction des différents contextes auxquels sera confronté le biologiste, ainsi que des différentes spécialités de la Biologie Médicale. Si "la validation est toujours un équilibre entre les coûts, les risques et les possibilités techniques" (extrait de la norme NF EN ISO/CEI 17025, § 5.4.5.3 note 3), et le temps, il en est de même pour le contrôle (permanent) de la qualité analytique.

Au préalable, le biologiste devra lire attentivement les dossiers des fournisseurs (notices, fiches techniques, références bibliographiques, …). Il devra évaluer et apprécier ces informations à la lueur de recommandations ou de textes réglementaires, des critères de performance énoncés par les sociétés savantes, des attentes du prescripteur,… Ce travail d'expertise est la base du métier de biologiste.

Valide au jour de l'impression

Sa mise en œuvre devra être simple, assurer une sécurité nécessaire et suffisante à un coût raisonnable, être rapide dans la détection des anomalies, sans alertes inutiles.

2 DEFINITIONS

Les définitions des termes utilisés dans le présent document se trouvent au chapitre 14, en annexe II, "DEFINITIONS".
Les références sur lesquelles s'appuie ce guide se trouvent listées au chapitre 15, en annexe III, "BIBLIOGRAPHIE".

3 DOMAINE D'APPLICATION

Le domaine d'application du présent guide concerne le cadre spécifique des contrôles de la qualité analytique en Biologie Médicale, tel que précisé au chapitre 1 – Objet du document, et ci-après dans le chapitre 7, Etat des lieux – Contexte réglementaire et normatif. En particulier, le présent guide traite uniquement du contrôle de qualité de la phase analytique, en excluant la phase pré-analytique, bien qu'importantes, ce qui ne signifie pas que les laboratoires ne doivent pas s'y attacher en prenant des dispositions conformes aux référentiels d'accréditation.
Ce guide est applicable aux laboratoires d'analyses de Biologie Médicale accrédités ou candidats à l'accréditation dans le domaine de la Biologie Médicale, selon les normes NF EN ISO/CEI 17025 et/ou NF EN ISO 15189.
Des laboratoires d'autres domaines analytiques peuvent l'utiliser (ex. œnologie, analyses physico-chimiques des eaux, …), dans la mesure où leurs problématiques en termes de contrôle de la qualité analytique sont semblables à celles recensées ci-après et y correspondent, pour répondre à leurs besoins.

4 MODALITES D'APPLICATION

Ce guide est applicable à compter du 01/07/05.
Dans le domaine considéré de la Biologie Médicale et au jour de son approbation, ce guide technique d'accréditation reflète l'état d'avancement des connaissances en termes de contrôle de la qualité analytique.

5 SYNTHESE DES MODIFICATIONS

Il s'agit de la première version du document; aucune marque de modification n'est donc indiquée.

6 MODALITE DE REEXAMEN

Les dispositions du présent document seront amenées à être modifiées ou complétées, pour tenir compte de l'évolution des pratiques, notamment techniques et de "l'état de l'art". A ce titre, ce document est revu au moins tous les 3 ans et révisé si nécessaire par la Section Laboratoires.

Valable jusqu'au jour de l'impression

7 ETAT DES LIEUX – CONTEXTE REGLEMENTAIRE ET NORMATIF

1. Cette exigence de mise en place de contrôles de la qualité analytique au sein d'un Laboratoire d'analyses de Biologie Médicale figure dans le Guide de Bonnes Exécution des Analyses de Biologie Médicale (GBEA, Arrêté du 26 novembre1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicales) avec au chapitre V-2 "*L'EVALUATION EXTERNE DE LA QUALITE (E.E.Q.)*", qui rappelle l'obligation de se soumettre au "[…] *CONTROLE DE QUALITE NATIONAL*" (§ V-2.1) et la recommandation à la participation volontaire aux ""Autres contrôles externes de qualité" (§V-2.2; CQE), mais surtout au chapitre V-3 "*CONTROLE DE QUALITE INTERNE*", qui indique: "*Le contrôle de qualité interne est indispensable pour permettre de déceler les anomalies et les erreurs des mesures pour y remédier immédiatement. Il est organisé par le biologiste. Il comporte toutes les mesures destinées à vérifier les différentes phases de l'activité permettant l'obtention des résultats, et notamment l'analyse d'échantillons de contrôle effectuée dans les mêmes conditions que celles appliquées aux échantillons biologiques. Les procédures opératoires doivent préciser la fréquence de passage des échantillons de contrôle et les valeurs acceptables pour chaque constituant. Elles doivent également comporter les instructions concernant les mesures à prendre en cas d'anomalies constatées.*"
Il est rappelé que les échantillons de contrôle ne peuvent en aucun cas se substituer aux échantillons de calibrage des mesures et, inversement, les échantillons de calibrage ne peuvent être utilisés en même temps comme échantillon de contrôle.

La notion de contrôle de qualité est largement reprise dans l'arrêté du 26 avril 2002 modifiant l'arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale, dans le chapitre C, "*CAS PARTICULIER DES BONNES PRATIQUES DE LABORATOIRE EN IMMUNO-HEMATOLOGIE ERYTHROCYTAIRE*", notamment au § II. 1.2.2 "*Les contrôles qualité internes*", avec entres autres "*En ce qui concerne la détermination ABO, le système analytique doit être contrôlé en utilisant une série d'échantillons de contrôle de phénotypes garantis (typage obtenu par un processus technique différent de celui qui doit être contrôlé par ces échantillons)*" ou encore dans le paragraphe dédié § III "*Contrôle de qualité interne (CIQ)*", où il est demandé que "*Le biologiste devra organiser un contrôle de qualité interne conformément au guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale (GBEA) et qui repose notamment sur l'analyse d'échantillons de contrôle effectuée dans les mêmes conditions que celles appliquées aux échantillons biologiques. Les résultats relatifs à ces échantillons de contrôle doivent être connus et garantis. La mise en oeuvre de ces contrôles est, au minimum, quotidienne.*"

2. La mise en place de tels contrôles est une exigence de la norme NF EN ISO/CEI 17025, dans son paragraphe 5.9 indiquant qu'il convient d'"*Assurer la qualité des résultats d'essais* […]", en formulant que "*Le laboratoire doit disposer de procédures de maîtrise de la qualité pour surveiller la validité des essais et des étalonnages entrepris. Les données résultantes doivent être enregistrées de telle sorte que les tendances sont détectables et, lorsque cela est faisable, des techniques statistiques doivent être appliquées à l'examen des résultats. Cette surveillance doit être planifiée et revue* […]."

3. Dans la nouvelle norme NF EN ISO 15189, le contrôle de qualité interne et externe est retrouvé au niveau du § 5.6 "*Assurer la qualité des procédures analytiques*", avec indication § 5.6.1, que "*Le laboratoire doit concevoir des systèmes de contrôle interne de qualité permettant de vérifier que la qualité prévue des résultats est bien obtenue. Il est important que ce système de maîtrise permette aux membres du personnel d'obtenir des informations claires et faciles à comprendre sur lesquelles baser leurs décisions techniques et médicales. Il convient de veiller particulièrement à éliminer les erreurs susceptibles de se produire dans*

Validation impression

le processus de traitement des échantillons, des prescriptions, des analyses, des comptes rendus, etc". Le contrôle de qualité externe (CQE) est abordé au § 5.6.4) avec "*Le laboratoire doit participer à des comparaisons interlaboratoires, telles que celles organisées dans le cadre de programmes d'évaluation externe de la qualité. La direction du laboratoire doit surveiller les résultats de l'évaluation externe de la qualité et participer à la mise en œuvre des actions correctives lorsque les critères de maîtrise ne sont pas respectés.*"

Outre la compétence du biologiste et la validation des techniques (cf. guide LAB GTA 04), l'utilisation et la correcte gestion des contrôles de Qualité (CIQ, CEQ) permettent d'assurer la qualité de la prestation d'analyse et la fiabilité du résultat. Après la validation des méthodes, la gestion du contrôle de qualité sera mise à profit pour estimer les incertitudes des résultats d'analyse, notion présente dans le GBEA, § 4. "*Expression des résultats et comptes rendus d'analyses*", § 4.1. "*Expression des résultats*" : "*L'expression des résultats doit être précise et sans équivoque. Les valeurs de référence doivent être indiquées. La méthode d'analyse et/ou les réactifs utilisé(e)(s) doivent être mentionné(e)(s) chaque fois qu'ils peuvent influer sur l'expression du résultat ainsi que lorsque la réglementation l'exige. Pour les résultats quantitatifs, le cas échéant, les performances analytiques de la méthode peuvent être indiquées. Les unités du système international (SI) doivent être utilisées quand elles existent.*"

Cette estimation de l'incertitude de mesure se retrouve dans la norme NF EN ISO/CEI 17025 au § 5.4.6 "*Estimation de l'incertitude de mesure*", avec au § 5.4.6.2 *"Les laboratoires d'essais doivent aussi posséder et appliquer des procédures pour estimer l'incertitude de mesure. Dans certains cas, la nature de la méthode d'essai exclut un calcul rigoureux, métrologiquement et statistiquement valable, de l'incertitude de mesure. Dans de tels cas, le laboratoire doit au moins tenter d'identifier toutes les composantes de l'incertitude et faire une estimation raisonnable, tout en assurant que la manière d'en rendre compte ne donne pas une impression erronée de l'incertitude. Une estimation raisonnable doit se baser sur une connaissance de la performance de la méthode et sur le domaine de la mesure et faire appel, par exemple, à l'expérience acquise et aux données de validation antérieures.*"

Cette approche des incertitudes de mesure sur les résultats est aussi une exigence de la nouvelle norme NF EN ISO 15189. Dans le paragraphe traitant de la validation, § 5.5.3, son point q) indique "*les sources potentielles de variation des résultats.*" En outre, dans le § 5.6.2, il est indiqué : "*Le laboratoire doit déterminer l'incertitude des résultats, dans le cas où cela est pertinent et possible. Toutes les composantes importantes de l'incertitude doivent être prises en compte. Les sources contribuant à l'incertitude peuvent inclure l'échantillonnage, la préparation des échantillons, la sélection des aliquotes d'échantillon, les calibrateurs, les matériaux de référence, les grandeurs d'entrée, l'équipement utilisé, les conditions expérimentales, l'état de l'échantillon et les changements de manipulateurs.*"

Validé en vue de l'impression

8 INFORMATIONS PERTINENTES A CONNAITRE POUR LA MISE EN ŒUVRE D'UN CONTRÔLE DE QUALITE

8.1 Les différents types d'analyses

Schématiquement, on distinguera trois types de méthodes d'analyse que l'on sera amené à traiter différemment :

1. **Les analyses de type quantitatif vrai :**

   Elles fournissent un résultat chiffré, sur une échelle continue dont les limites basses et hautes sont connues, en relation directe avec une quantité ou une activité donnée de l'analyte à mesurer.

2. **Les analyses de type qualitatif :**

   Le résultat de ce type d'analyse n'apporte pas d'information sur la quantité de l'analyte, mais seulement sur sa présence ou son absence (positif/négatif), ou éventuellement sur une présence ou une activité supérieure à celle d'un témoin donné (cas des titrages). On peut classer dans cette catégorie toutes les analyses dont le résultat est obtenu par la lecture de la réaction par un observateur, par comparaison avec des témoins positif, négatif, ou de titre donné, et donc avec une part de subjectivité.

3. **Les analyses assimilables à des analyses de type quantitatif :**

   Dans ce cadre seront regroupées des analyses fournissant un résultat de type qualitatif, extrapolé à partir de la mesure d'une donnée quantifiable (Densité Optique par exemple) avec un effet de seuil (analyses réalisées en technique EIA ou RIA par exemple).

Remarques :

- Les analyses de Biochimie, d'hormonologie, de numération globulaire, et d'hémostase courante sont des analyses de type quantitatif vrai, ainsi qu'en immunologie par exemple le dosage pondéral des immunoglobulines, des IgE totales, des fractions du complément, ou du dosage d'anticorps (Ac anti-HBs, etc.).
- Certaines analyses de sérologies virales (hépatites, HIV et HTLV, CMV, etc.), parasitaires et mycologiques (toxoplasmose, etc.) ou de Bactériologie (antibiogramme et CMI) sont des analyses, à résultat qualitatif, assimilables à des analyses de type quantitatif.
- Les analyses faisant appel à des principes d'Immunochromatographie (sérologies rapides unitaires par exemple), de Blot et assimilés (Western-Blot, RIBA, etc.), d'agglutination de latex, de particules sensibilisées ou d'hématies (VDRL, TPHA, Facteur rhumatoïde, groupage sanguin et RAI, etc.), d'Immunoélectrophorèse, ou d'Immunofluorescence (recherche d'anticorps et d'antigène, recherche de bactéries, identifications, mycobactéries, etc.) sont typiquement des analyses de type qualitatif.

8.2 Les différents types de contrôle de qualité - Définitions

Contrôle interne de qualité (évaluation interne de la qualité), CIQ, appelé couramment à tort CQI : Procédure réalisée au sein du laboratoire en association avec la mesure de spécimens de patients pour évaluer si le système analytique opère correctement en fonction de limites

Valide au jour de l'impression

de tolérance préétablies. Les matériaux de contrôle interne de qualité sont ceux utilisés dans ce cadre.

Contrôle externe de qualité (évaluation externe de la qualité), CEQ (appelé souvent à tort CQE) ou EEQ : Procédure d'évaluation des performances d'un laboratoire par le biais d'une comparaison interlaboratoire réalisée par une tierce organisation. Les matériaux de contrôle externe de qualité sont ceux utilisés dans ce cadre.

Contrôle de trousse (matériau de CQ) : Matériau de contrôle interne de qualité mis au point et fabriqué pour l'évaluation spécifique d'une trousse d'un dispositif médical de diagnostic *in vitro* et généralement fourni avec elle.

Contrôle indépendant (matériau de CQ) : Matériau de contrôle interne de qualité mis au point et fabriqué indépendamment de toute trousse spécifique d'un dispositif médical de diagnostic *in vitro* et fourni isolément.

8.3 Choix préalable à la mise en place d'un contrôle de la qualité analytique

Il est fondamental de souligner que le laboratoire doit avoir une politique et une stratégie définies en termes de contrôle de qualité (nature des échantillons, périodicité, effectifs du groupe de pairs, maîtrise statistique des procédés, ...) :

- Le choix des indicateurs de performances et limites d'acceptabilité associés d'une méthode doit se faire préalablement à la mise en place du contrôle de qualité analytique,
- Ce choix est du ressort du biologiste,
- Ce choix doit refléter l'état de l'art et la pertinence clinique. Il peut s'appuyer sur des recommandations de la Haute Autorité de santé, de sociétés savantes ou de groupes de travail, ou issues de conférences de consensus, sur les recommandations des fournisseurs, sur des publications scientifiques, ses propres valeurs limites recalculées et utilisées pour la gestion du CIQ, sur des résultats de campagnes d'intercomparaison, etc,
- Les limites d'acceptabilités ainsi choisies doivent être adaptées et notifiées pour chacun des niveaux et pour chacun des analytes qui seront contrôlés,
- Les recommandations de l'AFSSAPS en matière de réactifs de laboratoires doivent être respectées.

Note : les recommandations du fournisseur sont à prendre en tant que recommandations *a minima*. Il est rappelé que cela relève de la responsabilité du biologiste.

Valide au jour de l'impression

9 CONTROLE DE QUALITE D'UNE METHODE D'ANALYSE QUANTITATIVE

9.1 Objectifs du contrôle de Qualité

9.1.1 Le contrôle interne de qualité

Il peut utiliser des échantillons
- Titrés ou non titrés,
- Commerciaux ou de fabrication *in situ* ("pools"), à défaut ou en supplément.

1er objectif : contrôle de la calibration

Toute analyse quantitative ou assimilée, réalisée sur un équipement d'analyse doit être régulièrement calibrée. La calibration ne peut être validée que par le passage des CIQ. Les analyses ne peuvent être réalisées qu'après cette validation.

2ème objectif : contrôle continu de reproductibilité et de justesse

A intervalle défini (temps, nombre d'échantillons), les CIQ doivent être analysés pour vérifier que la technique est toujours :
- reproductible : régulièrement le coefficient de variation, CV = s/m, est calculé et il est comparé aux spécifications préalablement établies, qui doivent tenir compte de la pertinence clinique du paramètre,
- juste : la moyenne observée pour un CIQ donné est comparée à sa valeur théorique donnée par le fabricant ou estimée par l'utilisateur au cours d'une période probatoire.

L'estimation de ces 2 paramètres repose sur des outils statistiques, tels que les règles de Westgard par exemple (Westgard *et al.*, 1981).

Pour cet objectif, il est concevable d'utiliser des contrôles titrés ou non (commerciaux ou fabriqués *in situ*) à condition que la taille des lots soit suffisante, et la stabilité connue et maîtrisée.

Du point de vue pratique, la mise en œuvre du CIQ vise à
- Valider les résultats en temps réel,
- Détecter les erreurs et les corriger immédiatement,
- Prévenir les erreurs par l'observation d'un certain nombre de paramètres (dérives, …).

3ème objectif : confrontation interlaboratoires

Les valeurs observées par chaque utilisateur d'un CIQ donné sont centralisées par un organisme qui les confronte avec celles des autres utilisateurs ("pairs").
Cette confrontation externe du CIQ est une évaluation externe de la qualité (EEQ). Pour autant, il ne faut pas perdre de vue que l'utilisateur connaît les valeurs théoriques des CIQ qu'il utilise et qu'il est susceptible, volontairement ou involontairement, de corriger les valeurs qu'il transmet à l'organisme centralisateur (par exemple en effaçant les valeurs erronées, puis corrigées par un nouveau passage de contrôle).
Pour que cette confrontation ait toute sa valeur, l'utilisateur doit transmettre ses données brutes sans les modifier.

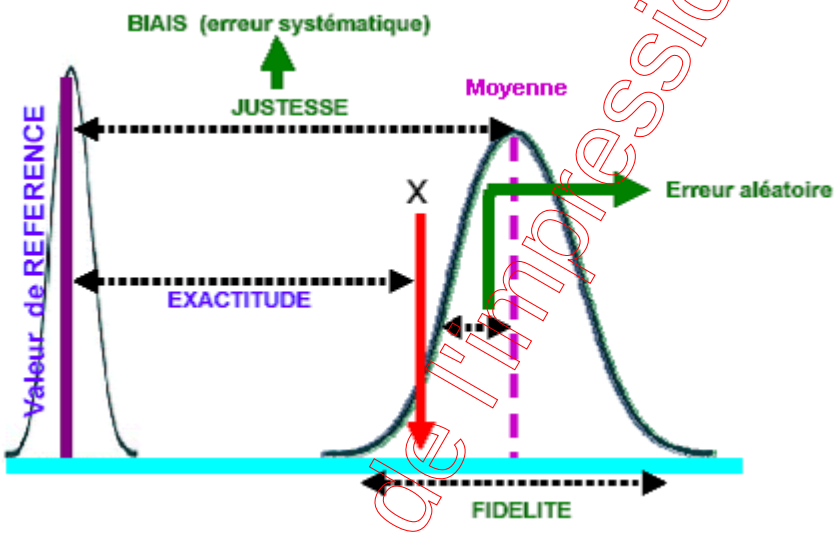
9.1.2 L'évaluation externe de la qualité (EEQ)

Validité au jour de l'impression

Par principe, la valeur du matériau de ce contrôle externe de qualité est inconnue de l'utilisateur dans le cadre d'un contrôle ponctuel. Il sert à contrôler *a posteriori* la justesse d'une méthode par rapport à un système de comparaison. Son inconvénient est parfois le délai de retour des résultats. Son avantage est sa garantie d'objectivité : son résultat ne peut pas être influencé par l'utilisateur.

9.2 Organisation d'un contrôle de Qualité

9.2.1. Exigences et indicateurs de performance



X = un résultat de mesure.

Figure 1 : Performances évaluables

Validé au jour de l'impression

Ces exigences peuvent être exprimées :

- En terme d'erreur totale admissible (ET_a) : cette limite résulte de la combinaison de l'erreur aléatoire et de l'erreur systématique, selon la formule, d'après Fraser,

$$ET_a = (\text{écart} - \text{type ET x z}) + |\text{biais}|$$

Avec z = 1,63, pour un risque de 5%, ou 2,33 pour un risque de 1%, dans le cas d'une déviation unilatérale et le cadre d'une distribution normale.

- En terme d'incertitude de mesure,
- En fonction de la pertinence clinique, notamment au niveau des seuils décisionnels,
- En fonctions des variations biologiques qui fournissent des bases d'évaluation de la fidélité et de l'exactitude.

Détermination des indicateurs de performance :

Les performances types à évaluer pour établir des procédures de CQ efficaces sont le biais (erreur systématique) et l'erreur aléatoire.

Evaluation de la fidélité :
Evaluation de la justesse :
Evaluation de l'exactitude :

En pratique, les indicateurs a évaluer sont :

o Fidélité :

Par évaluation du CV de répétabilité,
Par évaluation de la fidélité intermédiaire de la méthode (intralaboratoire), souvent appelée "reproductibilité" (CV du CIQ): mesures répétées sur un échantillon de contrôle stable, 20 mesures différentes sur 20 jours au moins,
Par évaluation de la reproductibilité de la méthode (interlaboratoire; CV du groupe de pairs par exemple).

o Justesse :

Par comparaison de la moyenne obtenue avec celle d'un groupe de pairs ou de l'ensemble des résultats (CEQ ou confrontation externe du CIQ), en calculant le biais, selon,

Biais = moyenne du laboratoire – moyenne du groupe de comparaison

Par comparaison de la moyenne obtenue pour des échantillons de patients avec celle d'une autre méthode ou d'une technique de référence,
Par comparaisons de la moyenne obtenue avec les valeurs de référence certifiées,
Par comparaison de la moyenne obtenue avec les valeurs du fournisseur,
Par comparaison des moyennes obtenues sur les valeurs de patients par deux techniques différentes.

o Exactitude : mesure isolée sur un échantillon stable et de valeur connue, puis :

Comparaisons avec les valeurs de référence certifiées,
Comparaison avec les valeurs du fournisseur,
Comparaison avec le groupe de pairs,
Comparaison sur les valeurs de patients obtenus par deux techniques différentes,
Comparaison des valeurs obtenues pour des échantillons de patients avec celles obtenus par une technique de référence.

9.2.2. Matériaux de contrôle

- Utilisation : l'échantillon de contrôle doit être utilisé pour chaque analyte et pour chaque série de longueur préétablie.

- Caractéristiques : l'échantillon de contrôle doit être adapté aux objectifs attendus. Le laboratoire devra en particulier étudier les points suivants :
  - Composition similaire ou identique à la matrice de l'échantillon patient : les matériaux de contrôle d'origine humaine sont recommandés (à défaut des matériaux d'origine animale peuvent être utilisés),
  - Homogénéité et stabilité (supérieure à un an, si possible), échantillon liquide prêt à l'emploi de préférence, à échantillon lyophilisé,
  - Si l'échantillon commercial adapté n'existe pas, le laboratoire peut préparer ses propres échantillons de contrôle.

Validé pour impression

- Relation avec les échantillons de calibration : les échantillons de calibration ne peuvent pas être utilisés comme échantillons de contrôle.
- Concentrations des analytes : le nombre et le niveau de concentration des échantillons doit être adapté aux valeurs d'intérêt clinique *:*
    - Niveaux de décision clinique : pour la plupart des analytes ***un minimum de deux niveaux de concentration est recommandé***,
    - Etendue de mesure/linéarité : Cette donnée devra être maîtrisée par le biologiste car elle induit des conduites à tenir pour les critères de repassage et les critères de dilution.

9.2.3. Définition de la périodicité

La périodicité sera fonction de :
- La fréquence de calibration,
- De la maintenance,
- De la longueur des séries,
- De la durée d'utilisation de l'équipement,
- Des autres moyens de surveillance et de contrôle,
- Des recommandations des fournisseurs,
- De la catégorie des équipements ("random access", …).

NOTE : En cas de résultats incorrects, l'ensemble des analyses depuis le précédent contrôle devra faire l'objet d'une évaluation pouvant conduire à une nouvelle analyse (après d'éventuelles mesures correctives et un contrôle valide).

9.3 Mise en œuvre du Contrôle de Qualité

La position des échantillons de contrôle dépend du nombre d'échantillons analysés, de la technique. Le passage pourra être effectué de façon aléatoire dans la série de patients, ou alors se faire en début et/ou en fin de série.

Le laboratoire se doit d'élaborer une conduite à tenir pour les contrôles hors-limites (déviants, rejets, …) :

- Analyse et élimination de la cause,
- Signification clinique des erreurs analytiques,
- Vérification des résultats patients,
- …

9.4 Programme de Contrôle Qualité interlaboratoire

Pour l'évaluation externe de la qualité, la participation au contrôle national de qualité (CNQ) est obligatoire. Les résultats obtenus ainsi que les commentaires et les éventuelles mesures correctives doivent être "tracés". La fréquence insuffisante et les délais d'exploitation justifient impérativement que ces contrôles de l'AFSSAPS soient complétés par la participation à d'autres essais interlaboratoires organisés par des industriels ou par des associations de contrôle de qualité (ASCOSUD, ASQUALAB, CTCB, PROBIOQUAL, …). L'utilisation de deux niveaux de contrôle permet d'établir des diagrammes de Youden dont l'interprétation permet d'appréhender la part des erreurs de reproductibilité ou des erreurs de justesse (Youden, 1959, 1960).

Le positionnement obtenu dans le cadre de ces opérations doit être "revu" par le personnel technique et biologique du laboratoire. Ces revues doivent permettre de décider des

Validé au jour de l'impression

mesures correctives si nécessaires ou des commentaires (analyses documentaires) à apporter en cas d'anomalies. Il ne faut pas hésiter si besoin à demander d'éventuelles explications complémentaires à l'AFSSAPS ainsi que des échantillons de contrôle supplémentaires pour d'éventuelles vérifications.

Cette interprétation doit tenir compte des résultats toutes techniques confondues (effectif, moyenne, CV%) avant et après troncature (nombre de résultats éliminés des calculs), des effectifs de chaque technique, des résultats éliminés pour chaque technique, des résultats obtenus par une technique, comparer ces différents résultats entre eux, …

9.5 Contrôle de Qualité et incertitudes de mesure

Devant une certaine difficulté rencontrée à déterminer les incertitudes de mesure des résultats analytiques sur la base du GUM, le contrôle de qualité offre une alternative selon l'approche ISO 5725.

En effet, les données obtenues par le contrôle de qualité aussi bien interne notamment sur la fidélité intermédiaire (CV de reproductibilité intralaboratoire) qu'externe, biais (justesse) et incertitude sur la justesse, participent en combinant ces paramètres à l'estimation des incertitudes de mesure des résultats analytiques. Le traitement de ce point spécifique des incertitudes de mesure fera l'objet d'un guide à part entière.

9.6 Exemples méthodologiques

9.6.1. Contrôle de Qualité en Biochimie

9.6.1.1. Introduction

Ce paragraphe décrit des principes méthodologiques ou des recommandations permettant la mise en place et le suivi d'un contrôle interne de qualité. Il évoque tout d'abord des méthodes possibles permettant de maintenir le procédé analytique dans des conditions stables puis des méthodes permettant la fixation d'objectifs analytiques au programme de contrôle de qualité et enfin un aperçu de méthodes envisageables pour juger de l'évolution des performances analytiques et permettre la comparaison de celles-ci entre différents systèmes.

9.6.1.2 La maîtrise statistique du procédé analytique

L'objectif consiste ici à maîtriser la variabilité naturelle du procédé analytique en le maintenant "sous-contrôle" tout en étant capable de détecter, voire d'anticiper des épisodes "hors-contrôle" à l'aide d'outils et de critères de décision statistiques.

Ces techniques utilisent le calcul de la moyenne ($\bar{x}$) et de l'écart-type (ET) suivis sur des cartes de contrôle de type Levey-Jennings (Levey et Jennings, 1950). Des limites d'acceptation de variabilité du procédé analytique pourront être fixées à ± 3 écart-types pour le déclarer "hors-contrôle" (rejet de la série de résultats) et à ± 2 écart-types pour alerter l'utilisateur sur la dégradation du procédé.

Calcul de la moyenne,

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$$

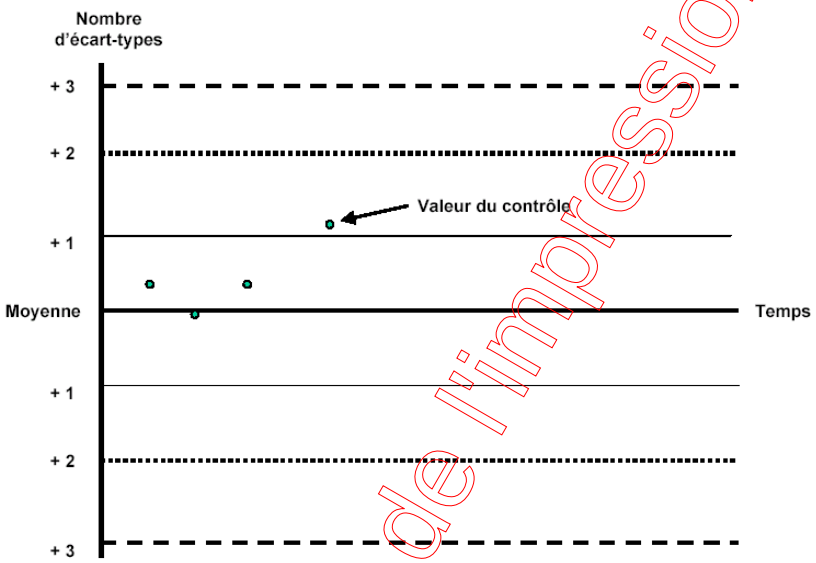
Aide autour de l'impression

$\bar{x}_i$ valeurs du contrôle de qualité
n nombre de valeurs de contrôle de qualité

Calcul de l'écart-type

$$ET = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

Exemple de diagramme de Levey-Jennings,



Remarque : sur cette carte les "limites fournisseurs" devront figurer ou être rappelées, surtout si ces limites fabricant se situent dans la zone ± 3 écart-types.

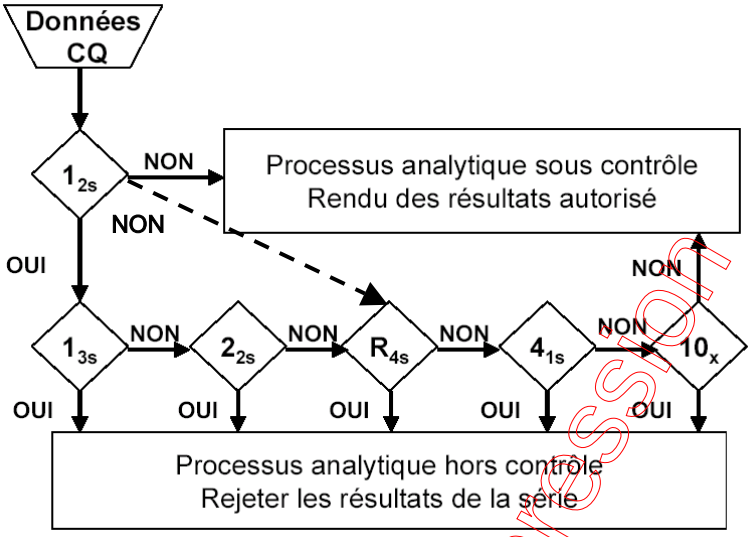
Ce suivi peut être rendu nettement plus efficace et pertinent en utilisant des règles de contrôle permettant d'identifier et d'anticiper des variations aléatoires ou systématiques : c'est le cas des règles de Westgard qui peuvent être utilisées en association sous forme de multi-règles.

Exemple de règles de Westgard (Westgard *et al.*, 1981) :

1_{2s} 1 valeur éloignée de plus de 2 écart-types de la moyenne,
1_{3s} 1 valeur éloignée de plus de 3 écart-types de la moyenne,
2_{2s} 2 valeurs consécutives éloignées de plus de 2 écart-types du même côté de la moyenne,
R_{4s} 2 valeurs consécutives éloignées l'une de l'autre de plus de 4 écart-types,
4_{1s} 4 valeurs consécutives éloignées de plus de 1 écart-types du même côté de la moyenne,
10_x 10 valeurs consécutives situées du même côté de la moyenne.

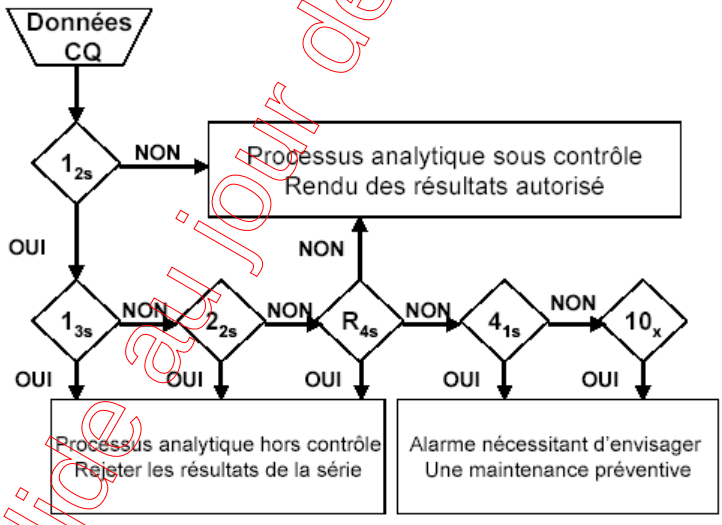
Validité au jour de l'impression

Exemple d'association sous forme de multi-règles proposée par Westgard :



Remarque: si la réponse est "non" pour la règle 1_{2s}, il ne faut cependant pas accepter le processus analytique, sans avoir vérifier les règles R_{4s}, 4_{1S} et 10_x (--->).

Exemple d'alternative proposée par Westgard :



Valide au jour de l'impression

Les paramètres de maîtrise de ce contrôle interne de qualité ainsi que le nombre de contrôles pourront être choisis en fonction de critères clairement établis prenant en compte les performances de la méthode, les limites acceptables de variabilité de ses performances (fidélité, biais ou erreur totale), mais également des paramètres tels que la Période Opérationnelle Moyenne (nombre moyen de contrôles à utiliser pour détecter une situation "hors-limite"), la probabilité de détection d'erreur (P_{de}) souhaitée en fonction du taux de faux rejets (P_{fr}) acceptable.

La probabilité de détection d'une erreur (P_{de}) décrit la probabilité d'avoir un signal de rejet quand il y a un changement dans la fidélité ou la justesse d'une méthode analytique. Un P_{de}

élevé, autour de 1,00 traduit la possibilité d'avoir 100% de chance de détecter une erreur analytique médicalement importante. Cette valeur sera souvent choisie à 0,90.

La probabilité d'un faux rejet (P_{fr}) décrit la probabilité d'avoir un signal de rejet quant il n'y a pas de changement de niveau de performance, en dehors de la variabilité commune de la méthode. P_{fr} devrait être bas, proche de 0,00 pour avoir 0,0% de chance d'avoir un faux rejet. La justification de son choix est essentiellement d'ordre économique.

Ces choix peuvent être réalisés par l'interprétation des courbes d'efficacité des cartes de contrôle qui donnent la probabilité de détection en fonction d'un niveau de variabilité (infidélité, biais, erreur totale) donné et des diagrammes de spécifications opérationnelles qui montrent la relation entre le programme de contrôle de qualité et les niveaux de performances d'une méthode (selon Westgard et Groth, Westgard 1992).

Les résultats (moyenne et écart-type) du contrôle interne de qualité du laboratoire pourront être efficacement évalués, dans le cadre d'une comparaison interlaboratoire des estimations de la fidélité et de la justesse par rapport à un groupe.

La justesse peut être évaluée en calculant un "z-score" qui exprime le nombre d'écart-type qui sépare le résultat du laboratoire de celui de la moyenne du groupe de comparaison (ISO/FDIS 13528). Appelé parfois SDI pour "Standard Deviation Index" en Hématologie, il peut être exprimé sous forme d'indice d'écart-type (IET) :

$$IET = \frac{\left(\bar{x}_{labo} - \bar{x}_{\text{groupe de comparaison}}\right)}{ET_{\text{groupe de comparaison}}}$$

Une valeur proche de zéro traduira une absence de biais par rapport au groupe; plus la valeur absolue de cet indicateur sera élevée plus elle traduira un problème potentiel de justesse.

Remarque : cet index peut s'avérer insuffisant lorsque l'écart-type du groupe de comparaison est trop élevé. Il est alors pertinent de faire le calcul par rapport à un écart-type acceptable (ETacceptable) prédéfini par la bibliographie, sous la forme d'un index de limite acceptable (ILA),

$$ILA = \frac{\left(\bar{x}_{labo} - \bar{x}_{\text{groupe de comparaison}}\right)}{ET_{\text{acceptable}}}$$

La fidélité peut être évaluée en calculant le rapport du CV du laboratoire avec le CV du groupe de comparaison sous forme de Ratio de Coefficient de Variation (RCV), autrement appelé parfois CVI pour "Coefficient of Variation Index" en Hématologie, :

$$RCV = \frac{CV_{labo}}{CV_{\text{groupe de comparaison}}}$$

Une valeur proche de 1,0 traduira une performance équivalente au groupe de comparaison, une valeur inférieure à 1,0 une performance meilleure, et une valeur supérieure à 1,0, une performance dégradée.

Remarque : ce ratio peut lui aussi s'avérer insuffisant lorsque le CV du groupe de comparaison est trop élevé. Il est alors pertinent de faire le calcul par rapport à un CV acceptable (CVacceptable) prédéfini par le laboratoire à partir de la bibliographie, sous la forme d'un ratio de limite acceptable (RLA),

Valide au jour de l'impression

$$RLA = \frac{CV_{labo}}{CV_{acceptable}}$$

9.6.1.3 L'utilisation d'objectifs analytiques

L'interprétation statistique des résultats de contrôle interne de qualité peut être complétée et optimisée par la fixation d'objectifs analytiques aux performances des méthodes utilisées. Ces objectifs analytiques peuvent être établis en fonction de la variabilité biologique de l'analyte (variations biologiques) ou en fonction des performances techniquement atteignables par les méthodes disponibles sur le marché (état de l'art).

9.6.1.3.1. Objectifs analytiques établis à partir des variations biologiques du paramètre

Les objectifs analytiques concernant le biais (B%), l'imprécision (I%) et l'erreur totale (TE%) sont établis en fonction des variations biologiques intra-individuelles (CV_w) et inter-individuelles (CV_g) du paramètre considéré.

Selon Ricos *et al.*, 3 niveaux de performances peuvent être établis : souhaitable, optimal et minimal. La base de données utilisée par Ricos *et al.* couvre 316 analytes déterminés dans le sérum, le plasma, l'urine, le LCR et le sang (Biochimie, Hématologie, Hémostase, Hormonologie, Marqueurs tumoraux…), cf. annexe I (§ 13).

Note : dans l'article original de ces auteurs, il est fait état du CV_b. Celui-ci est repris dans les tableaux de Westgard sous l'appellation CV_g.

Les limites acceptables sont ainsi calculées :

Performance	Limite optimale	Limite souhaitable	Limite minimale
Imprécision	$I < 0{,}25\ CV_w$	$I < 0{,}5\ CV_w$	$I < 0{,}75\ CV_w$
Biais	$B<0{,}125\ (CV_w^2 + CV_g^2)^{1/2}$	$B<0{,}25\ (CV_w^2 + CV_g^2)^{1/2}$	$B<0{,}375\ (CV_w^2 + CV_g^2)^{1/2}$
Erreur Totale	$TE<1{,}65I + B$ $(p<0{,}05)$	$TE<1{,}65I + B$ $(p<0{,}05)$	$TE<1{,}65I + B$ $(p<0{,}05)$

Remarque : le terme imprécision, "I", repris de l'article, désigne l'estimation de la fidélité.

9.6.1.3.2. Objectifs analytiques établis à partir de l'état de l'art de la méthode

Dans ce cas les objectifs analytiques sont déterminés à partir des performances obtenues dans les laboratoires à l'aide des méthodes présentes sur le marché. La base de données de Vassault *et al.* couvre 116 analytes (Biochimie, Immunochimie, Gaz du sang, Médicaments et toxiques, Marqueurs, Hormonologie).

Selon Vassault *et al.* les limites acceptables sont ainsi calculées :

Pour l'estimation de la fidélité : Reproductibilité = Répétabilité * 1,33

Pour l'estimation de l'erreur totale : $TE\% = 2 * \sqrt{\text{Justesse}^2 + \text{reproductibilité}^2}$

Ces limites correspondant à l'état de l'art peuvent également être obtenues à partir de programmes de comparaisons interlaboratoires de données de contrôle interne de qualité.

Validé à jour de impression

Certains auteurs Piero Bonvicini *et al.* ont proposé une approche mixte : variations biologiques et état de l'art.

9.6.1.4. Evaluation de la performance d'une méthode par le calcul de Sigma (selon Westgard, 2001)

L'approche "Six Sigma" peut être envisagée par le Biologiste comme un moyen d'optimiser l'efficacité de ses processus : il s'agit d'une approche globale d'amélioration de la qualité.
La capabilité d'un système d'analyse est la mesure établissant le rapport entre sa performance réelle et la performance demandée. Dans l'approche "Six Sigma" l'indicateur de capabilité représente la différence entre la performance demandée (l'erreur totale admissible TE_a) et la moyenne exprimée en nombre d'écart-type. D'où la formule :

$$\text{Sigma} = \frac{(TE_a - \text{biais})}{ET}$$

Dans l'approche "Six Sigma", une valeur calculée supérieure à 6,0 est considéré comme l'objectif ultime ; une méthode avec un sigma supérieur à 3,0 comme un niveau minimal de performance.
Le choix de la valeur de l'erreur totale permise à partir de publications ou de tables disponibles d'origines diverses devra être documenté et justifié, car il influence très largement le résultat du calcul de l'indice et représente la seule variable de l'équation cf. annexe I, §13).

Note: l'erreur totale admissible TE_a est celle donnée par le CLIA et ne correspond pas toujours à celle donnée par d'autres références (TE). TE_a doit être distinguer de TE. Exemple, pour le cholestérol :
Pour le CLIA : TE_a = 10 %
Pour Ricos *et al*., en limite souhaitable : TE % = 9 % (p<0,05) et = 11,1% (p<0,01)

La valeur du sigma permet l'optimisation du choix des règles de Westgard à appliquer et du nombre de contrôles à passer. Cet indice représente également un référentiel efficace pour comparer le niveau de performances de différentes méthodes entre elles.

9.6.1.5 Exemple d'objectifs analytiques en Biochimie pour l'acide urique et le calcium

Selon Ricos et *al*., les différentes valeurs proposées, pour un risque à 5%, pour l'acide urique et le calcium sont reportées dans les tableaux ci-dessous,

Spécifications pour l'erreur totale, la fidélité et la justesse calculées à partir des variations biologiques selon RICOS *et al*.

	Analyte	Variation biologique		**Limite souhaitable**			Limite optimale			Limite minimale		
		CVw	CVg	**I %**	**B %**	**TE%**	I %	B %	TE%	I %	B %	TE%
S	Acide urique	8,6	17,2	**4,3**	**4,8**	**11,9**	2,2	2,4	6,0	6,5	7,2	17,9
S	Calcium	1,9	2,8	**1**	**0,8**	**2,4**	0,5	0,4	1,2	1,4	1,3	3,6

Remarque : le terme imprécision, "I", repris de l'article, désigne l'estimation de la fidélité.

Valide au jour de l'impression

Selon le groupe de travail de la SFBC, Vassault *et al.*,

État de l'art :	Répétabilité %	Reproductibilité %	Biais %	Erreur Totale %
Acide urique :				
Niveau Bas 150 µmol/L	2,7	3,6	7,1	16,0
Niveau moyen 300 µmol/L	2,4	3,2	6,2	14,0
Niveau élevé 450 µmol/L	2,1	2,8	5,3	12,0
Calcium :				
Niveau Bas 1,8 mmol/L	1,2	1,6	1,7	4,6
Niveau moyen 2,4 mmol/L	1,2	1,6	1,7	4,6
Niveau élevé 3,4 mmol/L	1,2	1,6	1,7	4,6

Selon l'approche "Six Sigma",

	Calcium (conc # 2,0 mmol/l)	Ac. Urique (conc # 220 µmol/l)
CV	1,6 %	3,0 %
Biais	0,8 %	1,1 %
Erreur Totale admissible selon, CLIA 88	12,7 %	17,0 %
Sigma correspondant	**5,4**	**5,3**

Tableau illustrant la variabilité du sigma obtenu en fonction du choix de l'erreur totale admissible, pour le calcium et l'acide urique.

9.6.2. Assurance de la qualité des résultats pour la numération (Hématologie)

En suivant l'approche développée ci-dessus, est présenté ci-après des exemples d'objectifs analytiques en Hématologie pour les principaux paramètres de la numération.

Selon Ricos et *al* :

Spécifications pour l'erreur totale, la fidélité et la justesse calculées à partir des variations biologiques selon RICOS *et al.*												
	Analyte	Variation biologique		**Limite souhaitable**			Limite optimale			Limite minimale		
		CVw	CVg	**I %**	**B %**	**TE%**	I %	B %	TE%	I %	B %	TE%
	Erythrocytes	3,2	6,1	**1,60**	**1,72**	**4,36**	0,80	0,86	2,18	2,40	2,58	6,54
	Leucocytes	10,9	19,6	**5,45**	**5,61**	**14,6**	2,73	2,80	7,30	8,18	8,41	21,9
	Hémoglobine	2,8	6,6	**1,40**	**1,79**	**4,10**	0,70	0,90	2,05	2,10	2,69	6,15
	Plaquettes	9,1	21,9	**4,55**	**5,93**	**13,44**	2,28	2,96	6,72	6,83	8,89	20,15

Remarque : Ces différentes spécifications peuvent être également calculées pour les autres éléments de la formule.

Valide au jour de l'impression

Application à un automate d'Hématologie,

Hématologie : Comparaison des 3 niveaux de contrôle aux spécifications selon Ricos *et al*.

	CVw CV intra-individu	**CVg** CV inter-individu	**Limite souhaitable <**	**NIVEAU BAS**	**NIVEAU NORMAL**	**NIVEAU HAUT**	Limite Optimale <	Limite minimale <
Erythrocytes	3,2	6,1						
I %			**1,6**	1,14	1,40	1,45	0,8	2,4
B %			**1,7**	0,02	0,00	0,02	0,9	2,6
TE%			**4,4**	1,90	2,31	2,41	2,2	6,5
Leucocytes	10,9	19,6						
I %			**5,5**	2,68	2,40	2,88	2,7	8,2
B %			**5,6**	0,02	0,03	0,03	2,8	8,4
TE%			**14,6**	4,44	3,99	4,78	7,3	21,9
Hémoglobine	2,8	6,6						
I %			**1,4**	0,97	1,11	1,08	0,7	2,1
B %			**1,8**	0,00	0,00	0,00	0,9	2,7
TE%			**4,1**	1,60	1,83	1,78	2,1	6,2
Plaquettes	9,1	21,9						
I %			**4,6**	2,30	2,65	2,38	2,3	6,8
B %			**5,9**	0,04	0,01	0,03	3,0	8,9
TE% <			**13,4**	3,84	4,38	3,96	6,7	20,2

selon l'approche "Six Sigma", application à un automate d'Hématologie avec son groupe de pairs et comparaison aux performances annoncées par le fournisseur,

CALCUL DE SIGMA

Analyte	**RBC**			**WBC**			**Hb**			**Pt**		
TE_a **CLIA**	**± 6%**			**± 15%**			**± 7%**			**± 25%**		
	B%	**I%**	**Sigma**	**B%**	**I%**	**Sigma**	**B%**	**I%**	**Sigma**	**B%**	**I%**	**Sigma**
Automate laboratoire												
Anormal I	0,98	0,93	5,40	0,25	1,55	9,52	-0,36	0,82	8,98	0,71	2,20	11,04
Normal	0,76	1,30	4,03	2,11	1,75	7,37	-0,30	0,83	8,80	-0,21	2,70	9,34
Anormal II	0,69	1,15	4,62	-0,32	2,64	5,80	-0,01	1,32	5,31	0,83	2,80	8,63
Groupe de pairs												
Anormal I		1,01	5,93		1,45	10,34		0,88	7,95		2,10	11,90
Normal		1,07	5,60		2,73	5,49		0,81	8,64		2,60	9,62
Anormal II		1,19	5,06		2,81	5,34		1,28	5,47		2,80	8,93
Performances annoncées fournisseur		2,00	3,00		2,50	6,00		1,50	4,67		5,00	5,00

Valable uniquement à l'impression

9.6.3. Assurance de la qualité des résultats en Hémostase

De même sont présenté ci-après des exemples d'objectifs analytiques en Hémostase

Selon Ricos et *al*.,

Spécifications pour l'erreur totale, la fidélité et la justesse calculées à partir des variations biologiques selon RICOS *et al*.												
	Analyte	Variation biologique		**Limite souhaitable**			Limite optimale			Limite minimale		
		CVw	CVg	**I %**	**B %**	**TE%**	I %	B %	TE%	I %	B %	TE%
	Taux Prothrombine	4,0	6,8	**2,0**	**2,0**	**5,3**	1,0	1,0	2,6	3,0	3,0	7,9
	TCA	2,7	8,7	**1,4**	**2,3**	**4,5**	0,7	1,1	2,3	2,0	3,4	6,8
	Fibrine	10,7	15,8	**5,4**	**4,8**	**13,6**	2,7	2,4	6,8	8,0	7,2	20,4

Remarque : Ces différentes spécifications peuvent être calculées pour d'autres analytes d'Hémostase.

Comparaison de deux automates de coagulation aux spécifications selon Ricos *et al*.

	CVw CV intra-individu	CVg CV inter-individu	**Limite souhaitable <**	X1 CN	X2 CN	X1 CP	X2 CP	Limite Optimale <	Limite minimale <
Taux Prothrombine	4	6,8							
I %			**2,0**	4,16	3,08	3,42	2,68	1,0	3,0
B %			**2,0**	0,02	-0,01	-0,04	-0,05	1,0	3,0
TE%			**5,3**	6,88	5,06	5,61	4,37	2,6	7,9
TCA (APTT)	2,7	8,6							
I %			**1,4**	2,42	3,40	4,50	4,80	0,7	2,0
B %			**2,3**	0,04	-0,06	0,01	-0,02	1,1	3,4
TE%			**4,5**	3,96	5,55	7,44	7,90	2,2	6,7
Fibrinogène	10,7	15,8							
I %			**5,4**	4,33	3,60	5,17	3,95	2,7	8,0
B %			**4,8**	0,02	-0,01	0,02	0,00	2,4	7,2
TE%			**13,6**	7,15	5,94	8,54	6,52	6,8	20,4

CN : contrôle normal CP : contrôle pathologique

Selon l'approche "Six Sigma",

Calcul de SIGMA pour ces deux automates

Analyte	**TP**			**TCA**			**Fibrine**		
TE_a **CLIA**	± 15%			± 15%			± 20%		
	B%	**I%**	**Sigma**	**B%**	**I%**	**Sigma**	**B%**	**I%**	**Sigma**
Automate 1									
CN	0,02	4,16	3,60	0,04	2,42	6,18	0,02	4,33	4,61
CP	-0,04	3,42	4,40	0,01	4,50	3,33	0,02	5,17	3,86
Automate 2									
CN	-0,01	3,08	4,87	-0,06	3,40	4,43	-0,01	3,60	5,56
CP	-0,05	2,68	5,62	-0,02	4,80	3,13	0,00	3,95	5,06

Valable au jour de l'impression

9.6.4 Assurance de la qualité des résultats en moyenne des normaux

9.6.2.1 Définition

La moyenne des normaux correspond à la moyenne des résultats du jour des analyses des patients, paramètre par paramètre, pour un laboratoire donné.

9.6.2.2 Champs d'application

L'utilisation de la moyenne mobile n'a d'intérêt que pour des paramètres quantitatifs, en nombre suffisant : Biochimie, Hématologie, quelques paramètres d'hormonologie : bilan thyroïdien.
Elle ne peut en aucun cas s'appliquer aux analyses qualitatives ou semi-quantitatives.

9.6.2.3 Utilisation

Cette moyenne, pour un laboratoire donné, est d'une grande stabilité : sur un mois, sur un an, sur une journée. Cela permet, après avoir défini sa propre moyenne qui correspond à sa propre clientèle (recrutement), de s'assurer qu'il n'y a pas de dérive. En cas d'anomalie du CIQ, cela peut permettre de valider ou non la série (dérogation).

9.6.2.4 Limites

L'utilisation de la moyenne mobile est un moyen simple à mettre en oeuvre à partir du moment où l'échantillon des patients est stable ; s'adapte très bien à une clientèle de ville sans pathologie prédominante ponctuelle, ou bien, si la clientèle est disparate, on peut sélectionner les résultats compris dans les limites de normalité ou sélectionner les patients par origine (service…) afin d'exclure les services avec des pathologies prédominantes.

Ce contrôle de la qualité ne peut en aucun cas remplacer un CIQ mais peut être très utile pour suivre la stabilité des résultats et se rassurer quant à la validité d'une série d'analyses.

9.6.5 Assurance de la qualité des résultats en moyennes mobiles

Elle repose sur le principe des cartes de Shewhart qui ont pour inconvénient d'être relativement insensibles aux petits déréglages (moins de un sigma). La moyenne mobile est calculée sur une période fixe (ex. fenêtre "glissante" 30 derniers jours) et non pas en cumulant les résultats à partir d'une date fixe.

Les carte de contrôle moyennes mobiles ont pour but d'améliorer la sensibilité d'une carte de Shewhart par rapport aux petits et moyens décentrages du procédé et présentent l'avantage de tenir compte du passé (cf. Ph. Marquis, publications et site Internet).

Valable au jour de l'impression

10 CONTROLE DE QUALITE D'UNE METHODE D'ANALYSE QUALITATIVE

<u>Préambule:</u> le laboratoire est invité à définir une stratégie en fonction des différents items rappelés ci-après (§ 1 à 5).

10.1 Objectifs du contrôle de Qualité

Ils sont à définir dans la politique du laboratoire.

10.2 Organisation d'un contrôle de Qualité

Définition des besoins.

10.2.1. Exigences et indicateurs de performance

Mise en œuvre (nature des échantillons de contrôle, fréquence, position, règles, …)
Performances du CQ
Limites acceptables en fonction du dossier de vérification initiale
Choix d'un CQ approprié (efficience)

10.2.2. Matériaux de contrôle

Utilisation
Caractéristiques et types de contrôle
Relation avec les échantillons de calibration

10.2.3 Définition de la périodicité

Série analytique (période de temps, longueur)
Longueur des séries (recommandées par fournisseur / définies par l'utilisateur)
Réajustement périodique des longueurs/série

10.3 Exemples méthodologiques

10.3.1 Contrôles de Qualité en Bactériologie

10.3.1.1. Domaine d'application

L'exemple de contrôle de qualité développé concernera d'abord en Bactériologie des analyses pour lesquelles des travaux ont été faits et publiés, avec des recommandations consensuelles et présentant une facilité de mise en œuvre, comme l'identification des espèces microbiennes et l'antibiogramme.
Au sens de la définition des contrôles donnée en 8.2, il s'agit d'un CIQ actuellement limité aux analyses fréquentes de Bactériologie *stricto sensu*, comme en particulier :
- la réalisation des cytologies urinaires dans le cadre des ECBU,
- les identifications bactériennes en méthodes classiques ou automatisées,
- les techniques d'antibiogramme et les examens assimilés (CMI).

10.3.1.2. Les cytologies urinaires

Validée avant impression

Il est d'usage que le laboratoire de bactériologie réalise l'analyse de cytologie des urines adressées pour Examen Cyto-Bactériologique (ECBU). Le contrôle interne de qualité dans ce domaine est difficile pour des raisons évidentes de conservation des échantillons. En l'état de l'art, la fiabilité des résultats de cytologie repose avant tout sur la formation initiale des opérateurs et sur le contrôle régulier des compétences. Toutefois, on pourrait imaginer que le laboratoire établisse un plan d'échantillonnage quotidien permettant de vérifier le travail des opérateurs (par exemple, comptage en double et en aveugle de quelques échantillons d'urines).

Depuis quelques années, des automates de comptage des éléments cellulaires sont utilisés dans les laboratoires de bactériologie. La spécificité et l'étroitesse du marché font qu'à ce jour il n'existe que peu d'échantillons de CIQ autres que ceux proposés par les fournisseurs d'automates. Et encore, s'agit-il d'échantillons synthétiques commercialement disponibles ou fournis par les fabricants. S'il est évident que le passage quotidien, voire pluriquotidien, de ces contrôles doit être respecté à la lettre, il n'en demeure pas moins qu'en absence de contrôles externes, le laboratoire doit s'assurer de la fiabilité des résultats qu'il rend. Dans ces conditions, il peut sembler utile de vérifier au quotidien le fonctionnement de l'automate par des comparaisons avec les comptages au microscope selon un plan d'échantillonnage bien précis.

10.3.1.3. Les identifications bactériennes

Les identifications de bactéries répondent essentiellement à la loi du "tout ou rien" : chaque échantillon est unique et c'est la concordance avec un panel de caractères (culturaux, morphologiques, biochimiques, antigéniques, sérotypiques, etc.) qui permet d'attribuer tel ou tel nom sur une bactérie. Les critères les plus utilisés sont donc surtout phénotypiques, ce qui comporte d'assez grandes variations possibles pour une même identification. La finalité d'un contrôle de qualité en bactériologie n'est donc pas tant de vérifier l'exactitude des multiples phénotypes rencontrés mais plutôt de s'assurer de la pérennité des techniques choisies lors de la validation des méthodes. En pratique, l'objectif principal est de définir les circonstances ainsi que les fréquences des contrôles à effectuer.

La très grande diversité des espèces rencontrées d'une part, l'évolution importante des techniques disponibles d'autre part, font qu'il existe un panel très large de techniques d'identification disponibles, du test unitaire à la galerie commerciale, de quelques tests à plusieurs dizaines, et selon une méthode manuelle ou avec automate. Néanmoins, la diversité des réponses possibles ne doit pas éluder la nécessité de mettre en place des contrôles de la qualité adaptés aux conditions décidées pour la pratique quotidienne. Les tests unitaires doivent faire l'objet d'un respect scrupuleux des préconisations du fournisseur (ex : faire le témoin Négatif avec chaque test d'agglutination).

Par ailleurs, le passage régulier de souches de référence pour chaque technique sera fait selon une fréquence définie par le biologiste. Et pour les galeries commerciales, le passage des souches de référence sera planifié pour un même lot de galeries à chaque changement de lot et/ou après chaque intervention de maintenance sur un automate. Quant il y a plusieurs systèmes d'identification utilisés simultanément pour un ou plusieurs groupes de bactéries, il est souhaitable que ces techniques soient validées entre elles (par exemple, vérifier que des galeries à lecture automatisée concordent avec les galeries à lecture "manuelle"). Pour ces contrôles, il est conseillé, avec les souches de référence -souches de collection identifiées phénotypiquement et génotypiquement, publiées, propriétés des collections et disponibles dans ces "collections", appelées aussi centre de ressources biologiques (CRB)-, d'utiliser des souches cliniques, différentes des souches de référence et correspondant à des souches isolées en pathologie infectieuse, bien identifiées, et

Validation avant impression

correspondant à la pathologie courante observée chez des patients mais pas obligatoirement publiées.

10.3.1.4. Sensibilité des bactéries aux antibiotiques (antibiogrammes et CMI)

Avec les techniques manuelles en milieu gélosé, c'est le taille du diamètre d'inhibition de culture de la bactérie étudiée autour de disques imprégnés d'un antibiotique qui est à la base du résultat de l'analyse antibiogramme. Le report de ces diamètres observés sur des abaques de concordance permet de classer la souche testée en trois catégories : S, I ou R.

On pourrait imaginer suivre la qualité des antibiogrammes en utilisant les méthodes statistiques (moyennes ± écarts-types) couramment utilisées pour les méthodes à résultats quantitatifs comme en Biochimie ou en Hématologie. Toutefois, la "précision" donnée avec les méthodes à résultats *qualitatifs*, surtout si la lecture est oculaire, permettra tout au plus de déceler des erreurs techniques majeures : ainsi, un diamètre de 23 mm ou de 35 mm autour d'un disque de β-lactamine classera deux bactéries "S" dans les deux cas, mais avec un écart-type de l'ordre de 40% ! En fait, la réponse de type "globale" ne permet pas d'escompter une exploitation très précise pour ce type de technique. Le plus utile réside en fait dans le choix judicieux de souches de référence permettant de déceler sans faille les différents mécanismes de résistance des bactéries.

Avec les méthodes en milieu liquide où la presque totalité de l'analyse est automatisée, le contrôle de qualité est facilité avec la notice du fabricant, variable selon le constructeur, qui décrit le mode opératoire, les souches à utiliser ainsi que les divers éléments techniques de réalisation. Chacun des automates utilisés comporte un module dédié pour les résultats observés avec les souches de contrôles, et dans un cas décrit par Honderlick, il y a en plus un traitement statistique complet (écart-type, moyenne, variance calculée et affichée pour chaque couple bactérie-antibiotique) concernant les résultats observés avec les souches de contrôles de l'année ou d'une période définie.

Il existe aussi une méthode de référence à laquelle on est tenu de se reporter si nécessaire, comme les fabricants d'automates qui utilisaient la méthode de dilution en milieu gélosé qui devrait être bientôt remplacée par la technique de microméthode en milieu liquide (Bert-Chalier).

10.3.1.5. Indicateurs de performance

Les résultats d'antibiogramme constituent une tâche quotidienne délicate pour le biologiste. Les nombreux pièges possibles dans son interprétation nécessitent une formation solide des opérateurs tant dans la réalisation que dans la lecture des antibiogrammes. Pour toutes ces raisons, le contrôle de qualité interne doit être organisé et respecté scrupuleusement au sein du laboratoire. Le biologiste devra s'attacher à :

- choisir les souches de référence permettant le mieux de tester les points critiques rencontrés dans les différents phénotypes de résistance,
- choisir correctement les techniques à utiliser selon le type de bactérie à tester,
- définir les fréquences de passage des souches de références (une fréquence bimensuelle semble un objectif raisonnable, ainsi qu'à chaque changement de lot en cas de galeries commerciales ou après une grosse intervention de maintenance, etc.),
- dans le cas où le laboratoire utilise un automate avec des règles d'interprétation personnalisables, il est impératif que ces règles soient clairement écrites, afin de permettre un traitement uniforme des échantillons à tester, notamment après une maintenance ou une modification de logiciel,
- dans le cas d'utilisation de "système expert", il est nécessaire de tenir compte des commentaires associés à l'antibiogramme,

Valide au jour de l'impression

- la cohérence de l'antibiogramme avec l'identification du germe étudié devra être vérifiée. Il est aussi recommandé de se référer aux descriptions des résistances naturelles aux antibiotiques pour chaque espèce bactériennes décrite par Einsenberg, ainsi que par le Comité de l'Antibiogramme de la SFM (CA/SFM), disponible sur le site Internet de la SFM,
- si plusieurs techniques d'antibiogramme sont en vigueur au laboratoire, il est hautement souhaitable que le biologiste vérifie régulièrement la cohérence des résultats entre les différents systèmes utilisés (une fois par mois par ex.).

10.3.1.6. Matériaux de contrôle utilisables

La réalisation de ces contrôles implique la disponibilité de matériau, commercialement disponible, ce qui est souvent le cas.
Cependant il faudra faire des exceptions pour certaines identifications ou bien les cas pour lesquels un consensus n'a pas été encore clairement établi (ex : certaines espèces, parasites, virus, non disponibles ou recommandations, sans accord réel, comme par exemple la sensibilité aux antifongiques).

Le Biologiste devra utiliser des souches-test choisies sur des critères précis de sélection, notamment :
- souches couvrant au maximum le panel des profils bactériens qu'il a l'habitude de rencontrer (Entérobactéries, staphylocoques, streptocoques, aérobies stricts, anaérobies, etc.). Ce choix prendra en compte les points critiques des techniques d'identification qu'il utilise, quelles soient manuelles ou automatisées. Le choix du CIQ approprié est dicté aussi par le recrutement habituel et aussi par l'actualité en matières de maladies infectieuses mais la disponibilité des souches peut être un obstacle dans ces cas,
- la liste des souches utilisées pour le contrôle des antibiogrammes devra également prendre en compte les phénotypes correspondant le mieux à son activité (patients de "ville", patients hospitalisés, services de réanimation ou de long séjour,…). Le laboratoire devra tester non seulement des souches sensibles mais aussi des souches exprimant les différents mécanismes de résistance (par exemple, une souche de *Staphylococcus aureus* méticillino-résistante, une souche productrice de β-lactamase à spectre étendu (BLSE), une souche d'*Enterococcus* résistant aux glycopeptides, une souche de *Streptococcus pneumoniae* de sensibilité diminuée à la pénicilline, …),

Il s'agira de souches microbiennes de référence connues pour leurs caractéristiques : critères d'identification et sensibilités variables aux antibiotiques qui seront reparties en aliquots identiques en concentration et congelés à -80°C. L'utilisation de souches entretenues par "repiquages" successifs et nombreux n'est pas à recommander.

Ces souches sont commercialement disponibles dans différentes sociétés et dans les centres de ressources biologiques (CRB, collections). Par exemple citons les plus utilisées comme :

- *Escherichia coli* (CIP 7624, ATCC 25922),
- *Staphylococcus aureus* (CIP 7625, ATCC 35923),
- *Pseudomonas aeruginosa* (CIP 16110, ATCC 27853),
- *Enterococcus foecalis* (CIP 103214, ATCC 29212),
- *Streptococcus peumoniae* (ATCC 49619),
- *Candida albicans* ATCC,
- *Candida krusei* ATCC 6258,
- *C. parapsilosis* ATCC 22019,

L'efficience (rapport qualité/coût) doit être aussi pris en compte pour faire le choix des matériaux. Par exemple les souches références pourraient être substituées -pour une période limitée à 12 mois maximum- par des subcultures de la souche de référence qui

Valide au jour d'impression

n'aura été achetée qu'une seule fois dans un centre de ressources biologiques ; une possibilité plus pratique parfois consistant à garder les souches lyophilisées ou en solutions avec 10% de DMSO et distribuées en aliquotes qui seront conservées à -80°C. Il s'agira de souches microbiennes de référence, connues pour leurs caractéristiques : critères d'identification et sensibilités variables aux antibiotiques et congelés à -80°C. L'utilisation de souches entretenues par "repiquages" successifs est à proscrire.

10.3.1.7. Périodicité et fréquences

La difficulté de disposer de façon répétée d'échantillons bactériologiques "vrai" ne permet pas d'envisager un contrôle de qualité avec des fréquences comparables a celles des analyses à résultats quantitatifs et pour lesquelles les échantillons de référence sont reproductibles et stables avec une composition bien définie.
Les grandes séries en Bactériologie ne sont pas très fréquentes dans les laboratoires français et il n'y a pas comme en Biochimie de recommandations pour le passage et la longueur des séries d'analyses.

La périodicité recommandée des contrôles de Bactériologie est variable selon les différents auteurs et divers documents utilisés. En ce qui concerne les antibiogrammes cette périodicité peut entre mensuelle ou hebdomadaire pour Bartlett. Pour Isemberg, il faut suivre un algorithme décisionnel qui permet après un contrôle quotidien de 30 jours et selon les résultats observés de passer à un contrôle hebdomadaire. En France, en absence de recommandations précises, et selon le GBEA, le choix de la périodicité est du ressort du Biologiste. Cette périodicité du CIQ pourrait être pour les analyses décrites ci-dessus hebdomadaires ou bimensuelles pour les méthodes manuelles, en accord avec les recommandations du fabricant d'automate.

En Parasitologie et en Virologie, des frottis chargés en parasites ou des solutions contenant des cellules infectées peuvent être utilisés dans le cadre des confrontations interlaboratoires décrites ci-dessus.

10.3.1.8. Mise en œuvre

Pour la réalisation des contrôles à partir de souches bactériennes la concentration en bactéries des solutions ou aliquotes utilisées devra être bien respectée et précisée dans les compte rendus.
Pour la position des échantillons de contrôle, en dehors de l'utilisation d'automates, il pourrait être conseillé d'avoir des résultats obtenus par deux manipulateurs différents.
Quant aux critères de comparaison et de décision pour les résultants, ils devront se référer aux propositions décrites dans la littérature ou accessibles sur sites Internet et/ou proposées par les sociétés qui commercialisent les produits de référence utilisés.

10.3.1.9. Le Contrôle Externe de la Qualité (CEQ)

Les confrontations interlaboratoires doivent être un principe de base de la vérification de la qualité au sein d'un laboratoire de Bactériologie. De telles confrontations sont assurées par les différentes associations de Biologie Médicale qui adressent régulièrement des souches à tester. Le plus souvent, il s'agit de souches isolées de cas cliniques et qui présentent des particularismes (voire des difficultés) qui permettent aussi de juger de l'aptitude du laboratoire à traiter les différents types de prélèvements. Les résultats de ces contrôles sont basés sur :

- le choix des milieux de culture utilisés et des antibiotiques à tester,
- le rendu des résultats avec l'interprétation,
- le résultat de l'antibiogramme (brut et interprété),

Valable au jour de l'impression

- le conseil thérapeutique si nécessaire.

Le rythme d'une confrontation trimestrielle semble être le plus approprié à suivre (auxquelles s'ajoute, bien sûr, le contrôle national obligatoire). La restitution des résultats à toute l'équipe avec mise en place d'actions correctives le cas échéant, doit représenter une source non négligeable de maintien de la qualité au sein du laboratoire, selon le principe de l'assurance qualité que tout échec est source de progrès.

Ceux-ci sont moins fréquents que pour les analyses à résultats quantitatifs, mais il est possible d'en trouver en France ainsi que dans des réseaux ou structures européennes afin de participer à de telles comparaisons de résultats.

En Virologie, comme cela peut-être le cas en Parasitologie et Hématologie, des frottis chargés ou des solutions contenant des cellules infectées peuvent être utilisés selon la catégorie du contrôle effectué (charge virale du CNQ, contrôles européens, …).

Chaque fois que cela lui est possible, il est également recommandé au Biologiste de participer à des enquêtes épidémiologiques ou à des réseaux (type ONERBA, Observatoires Régionaux, centre de référence, …). Cette activité est importante pour le biologiste qui peut ainsi situer, au niveau régional, les résultats observés dans son laboratoire. Elle pourrait permettre dans certains cas de révéler des anomalies de résultats dues à des erreurs systématiques de lecture ou d'interprétation. Ainsi il est possible d'observer des écarts systématiques de résultats de CMI trouvés sur une même espèce bactérienne dans une même région pendant une période donnée, alors que les autres laboratoires de la région ont des résultats homogènes entre eux. Ceci doit évoquer plutôt l'anomalie de lecture avant de conclure trop rapidement à une nouvelle évolution de la résistance des souches isolées par un seul laboratoire dans la même région.

En conclusion, la compétence d'un laboratoire de Bactériologie sera évaluée par la pratique régulière de contrôles internes type CIQ et par la participation à des contrôles interlaboratoires ainsi que par la mise en place régulière de mesures correctives nécessaires et adéquates.

10.3.2 Assurance de la qualité des résultats en Immuno-hématologie

10.3.2.1 Objectifs du contrôle de Qualité

Ils sont à définir dans la politique du laboratoire. Le laboratoire dispose de procédures de maîtrise de la qualité pour surveiller la validité des essais et des étalonnages entrepris. Les données résultantes sont enregistrées de telle sorte que les tendances soient détectables. Cette surveillance est planifiée et repose sur les éléments des paragraphes suivants .

10.3.2.2 Organisation d'un contrôle de Qualité

Le contrôle interne de qualité peut utiliser des échantillons

- Titrés ou non titrés,
- Commerciaux ou de fabrication *in situ* ("pools"), à défaut ou en supplément.

<u>Contrôle pour les explorations sériques (Ex : R.A.I.)</u>

Toute recherche d'anticorps réalisée quelle que soit la technique doit faire l'objet d'un contrôle régulier, réalisé à l'aide d'anticorps de spécificité et de performance (intensité de réaction) connues et de préférence polyclonaux (CIQ). Les analyses ne peuvent être validées qu'après vérification de la conformité des résultats de ce contrôle.

Valable au jour de l'impression

Contrôle pour les phénotypages érythrocytaires (Ex : ABO, Phénotype RH Kell, etc..)

Tout phénotypage réalisé quel que soit la technique doit faire l'objet d'un contrôle régulier, réalisé à l'aide d'hématies de contrôle de phénotype garanti par un processus technique différent de celui qui est contrôlé par ces échantillons (CIQ). (Liste en annexe) Les analyses ne peuvent être validées qu'après vérification de la conformité des résultats de ce contrôle.

Objectif commun : contrôle continu de reproductibilité et de justesse

A intervalle défini (temps, nombre d'échantillons), les CIQ doivent être réalisés et leur analyse permet de vérifier que la technique est toujours :

- reproductible, par comparaison aux spécifications initiales (intensité de la réaction),
- juste : le résultat observé pour un CIQ donné est comparée à ses caractéristiques initiales indiquées par le fabricant.

Du point de vue pratique, la mise en œuvre du CIQ vise à

- Valider les résultats en temps réel,
- Détecter les erreurs et les corriger immédiatement,
- Prévenir les erreurs par l'observation d'un certain nombre de paramètres (dérives, …).

L'évaluation externe de la qualité (EEQ)

Par principe, la valeur du matériau de ce contrôle externe de qualité est inconnue de l'utilisateur dans le cadre d'un contrôle ponctuel. Il sert à contrôler à posteriori la justesse d'une méthode par rapport à un système de comparaison. Son inconvénient est le délai de retour des résultats. Son avantage est sa garantie d'objectivité : son résultat ne peut pas être influencé par l'utilisateur.

La participation au contrôle de qualité de l'AFSSAPS est obligatoire. Le laboratoire participe également au programme organisé par une société savante ,comme la SFTS, ou une autre choisie par le Biologiste.

10.3.2.3 Matériaux de contrôle

Il s'agit de contrôles internes de qualité.

Ceux mis en œuvre dans le cadre du groupage ABO-RH1 et des phénotypages érythrocytaires sont des échantillons de contrôle, dont le phénotype est garanti et obtenu par une méthode différente de celle qui est contrôlée par ces échantillons.

Ceux mis en œuvre dans le cadre des explorations d'anticorps sont des échantillons de contrôle comportant des anticorps natifs si disponibles ou des réactifs de spécificité et de titre connus. Pour la recherche d'anticorps irréguliers, et pour l'épreuve de compatibilité au laboratoire ils comportent au minimum un anticorps de titre ≤ à 4, dans la technique d'utilisation et sur une hématie comportant l'antigène correspondant d'expression "hétérozygote".

Ceux mis en œuvre dans le Test Direct à l'Antiglobuline contenant des hématies sensibilisées in vitro par des IgG.

Ces contrôles internes qualité sont mis en œuvre au minimum quotidiennement, en fonction de la fréquence de réalisation des analyses concernées et dans les mêmes conditions que

Valide au jour de l'impression

celles appliquées aux échantillons biologiques. Ils permettent un contrôle continu de la qualité des résultats des analyses.

Ces CIQ sont également mis en œuvre dans le cadre du contrôle à réception des réactifs.

Parallèlement à ces CIQ il existe des témoins réactifs. Ils sont mis en œuvre pour valider une réaction analytique positive ou négative (ex : témoin réactif et non réactif dans le cadre de phénotypage ou de test direct à l'antiglobuline).

Les témoins appropriés sont systématiquement réalisés en parallèle du traitement de l'échantillon.

10.3.2.4 Suivi statistique appliqué à l'examen des résultats

Il comprend le suivi d'indicateurs analytiques : conformité des CIQ, fréquence des corrections manuelles par unité réactionnelle, fréquence de reprises, de dépistage positif, …

Analyses réitérées à l'aide de méthodes identiques ou différentes et corrélation de résultats.

Il s'agit, par exemple :

- Pour le phénotypage : de la comparaison effectuée entre 2 réalisations ou entre 1 réalisation et un historique quand il est disponible,
- Pour l'identification d'anticorps anti-érythrocytaire : des techniques complémentaires (enzymatiques, …) peuvent être mises en oeuvre.

10.3.2.5 Nouvelle analyse sur prélèvement (objet) ou spécimen conservé

Il concerne le titrage d'anticorps anti-érythrocytaires immuns autres que les anti-A et anti-B immuns ; pour lequel il est nécessaire de réaliser en parallèle un titrage de l'échantillon précédent, conservé congelé à une température inférieure ou égale à –30°C.

Valide au jour de l'impression

11 CONTROLE DE QUALITE D'UNE METHODE D'ANALYSE ASSIMILABLE AU QUANTITATIF A RESULTAT QUALITATIF (SEMI-QUANTITATIF)

Préambule: le laboratoire est invité à définir une stratégie en fonction des différents items rappelés ci-après (§ 1 à 5).

11.1 Objectifs du contrôle de Qualité

Ils sont à définir dans la politique du laboratoire.

11.2 Organisation d'un contrôle de Qualité

Définition des besoins.

11.2.1. Exigences et indicateurs de performance

Mise en œuvre (nature des échantillons de contrôle, fréquence, position, règles, …)
Performances du CQ
Limites acceptables en fonction du dossier de vérification initiale
Choix d'un CQ approprié (efficience)

11.2.2. Matériaux de contrôle

Utilisation
Caractéristiques et types de contrôle
Relation avec les échantillons de calibration
Concentrations des analytes

11.2.3 Définition de la périodicité

Série analytique (période de temps, longueur)
Longueur des séries (recommandées par fournisseur / définies par l'utilisateur)
Réajustement périodique des longueurs/série

11.3 Exemples méthodologiques

11.3.1 Assurance de la qualité des résultats en Sérologie : Règles de la maîtrise statistique des procédés lors de la validation des plaques et/ ou séries et au long court.

11.3.1.1. Objectifs du contrôle de qualité

Le contrôle de qualité permet de

Réaliser pour chaque série d'analyse la validation analytique du processus analytique,

Repérer les dérives du processus analytique dans le temps.

Validé au jour de l'impression

Pour cela, on part du principe qu'une série d'analyse regroupant les échantillons de patients, les contrôles ou calibrateurs fabricant et le ou les CIQ constituent un processus analytique et que la validation analytique devra se faire non seulement contrôle par contrôle (chaque contrôle fabricant et CIQ) mais aussi dans la globalité (cf. ci dessous).
L'exemple cité ici représente ceux des trousses de diagnostics d'hépatites et rétrovirus, trousses dites "sensibles" au regard de la directive européenne 98/79/CE (tousses marquées CE en annexe II, liste A, telles que antigène HBs, anti-VIH 1et 2, anti-HCV, …)

11.3.1.2. Organisation du contrôle de qualité

Définition des besoins

Les échantillons de CIQ sont pour la plupart commercialisés sous forme liquide ou lyophilisé, des indications de résultats obtenus avec quelques trousses sont quelquefois données. On ne peut donc pas considérer que ces échantillons soient "titrés".

Indicateurs de performances à déterminer

Du fait même de la nature non titrée ces CIQ, deux éléments de performances peuvent être suivis :

La fidélité (reproductibilité grâce au CV),
La justesse (biais par rapport à la valeur cible calculée après une période probatoire correspondant à l'accumulation d'au moins 20 valeurs).

Mise en œuvre

Le CIQ sera choisi dans la mesure du possible de manière à obtenir un résultat proche du seuil de positivité.
Le CIQ doit être déposé dans chaque série d'analyse en plus des contrôles ou calibrateurs fabriquant.
La périodicité est de ce fait liée à la fréquence de réalisation des analyses à savoir, autant de fois que de série. Attention, la taille des séries doit être définie en fonction de l'activité du laboratoire et ceci plus particulièrement sur les automates fermés. Ces séries ne doivent pas être trop grandes, car alors il est pris le risque que lors de la validation analytique (si celle-ci est invalide), l'ensemble des analyses est à refaire.
Le CIQ est à positionner soit de manière aléatoire, si cela est possible, soit en fin de série (échantillon dit flottant), soit de manière fixe si cela permet de ne pas l'oublier.

Limites acceptables/performances

Les valeurs obtenues pour chaque série seront à confronter aux limites établies (cf. ci-dessous). Périodiquement (chaque semaine par exemple) la carte de contrôle sera observée afin de vérifier l'absence de dérive.

Tout écart par rapport aux règles définies doit donner lieu à une décision de la part du biologiste (dérogation, période de surveillance, refaire la série, recalculer des limites acceptables, …).

Il faut rappeler que la validation initiale sur site permet d'obtenir les éléments nécessaires aux premiers calculs.

11.3.1.3. Rappel de statistique pour le calcul des limites de contrôle

Les limites de contrôles sont calculées de la manière suivante :

Validé au jour de l'impression

Une extraction est faite vers Excel (quand cela est possible) de date à date des éléments suivants de chaque série :

Moyenne des témoins négatifs,
Moyenne des témoins positifs 1,
Moyenne des témoins positifs 2 ou des témoins seuils,
Moyenne des ou du CQ,
Moyenne des échantillons négatifs, moyennes d'échantillons positifs.

1) Sur l'ensemble des moyennes obtenues (sauf sur les moyennes de population telle que "échantillons négatifs", "échantillons positifs") des différentes plaques, sont effectués les calculs suivants :

Moyenne, écart type (SD)

Puis les bornes s'établissent ainsi,

$$\text{Limite supérieure} = \text{moyenne} + 3\,SD/\sqrt{\text{effectif de la population}}$$

$$\text{Limite inférieure} = \text{moyenne} - 3\,SD/\sqrt{\text{effectif de la population}}$$

L'effectif de la population est le nombre d'éléments contenus dans cette population, par exemple, si l'on dépose dans une série de trois témoins positifs, l'effectif de cette population est de trois.

2) Pour la moyenne des échantillons négatifs, il est possible d'utiliser la règle du "six sigma" (Westgard, Lamprecht)

Partant du principe (dans le cadre du dépistage et non du diagnostic) que la production parfaite de résultats est celle de résultats négatifs, il faut obtenir le nombre de prélèvement rendu parfaitement négatif et donc connaître tous les non-négatifs. Le rapport des deux populations correspond au rendement. Celui-ci est introduit dans une table qui nous donne la valeur du coefficient multiplicateur de SD. Ainsi on obtient les bornes supérieures et inférieures pour la validation analytique des séries.

3) pour la moyenne des échantillons positifs il faut considérer que le résultat positif que l'on rend doit être parfait. Or nous ne réalisons pas un test de confirmation sur tous les tests rendus. Il est donc nécessaire de connaître la spécificité analytique de la trousse correspondant au rendement qui est alors référencer dans la même table afin d'obtenir donne la valeur du coefficient multiplicateur de SD. Ainsi on obtient les bornes supérieures et inférieures pour la validation analytique des séries.

4) période probatoire

La difficulté en immuno-sérologie est celle de la validation analytique pendant la période probatoire, voire au moment du changement de lot, quand il y a rupture dans la carte de contrôle. Pendant cette période afin de ne pas se retrouver confronter à un vide dans la validation analytique quant à l'analyse des résultats des valeurs de témoins et contrôle, il est proposé la solution suivante et ceci quelque soit la taille et la périodicité des séries :

Avec les résultats obtenus sur les trois premières séries, réaliser un premier calcul de moyenne, écart type et calcul des limites. Puis, lors de la série suivante, cumuler les valeurs de témoins et contrôles avec ceux des trois séries précédentes. On cumulera les valeurs

Validé au jour de l'impression

avec un réajustement des limites à chaque série jusqu'à l'obtention minimale des 20 qui permettront de considérer le processus stabilisé pour obtenir des limites définitives.

11.3.1.4. Première approche de l'estimation de l'incertitude sur le résultat

Cette estimation est obligatoire d'après la norme NF EN ISO/CEI 17025. Il permet d'entourer le résultat final de "l'ensemble des éléments qui concourent à une variation sur la mesure".

Un première approche est proposée :

Trousse par trousse, un relevé des CV% des CQ observés sur les différents lots de réactifs de cette trousse pendant un an environ quelque soit le couple automate – réactif,
Le CV% le plus grand sera retenu en estimant ainsi que ce CV% le plus grand couvre de fait tous les types de variations. Il devra donc être revu périodiquement.

Ce CV % sera ensuite déclaré comme incertitude et entré dans le paramétrage des trousses comme zone grise inférieur et supérieure.

11.3.1.5. Application des règles de maîtrise statistique des procédés

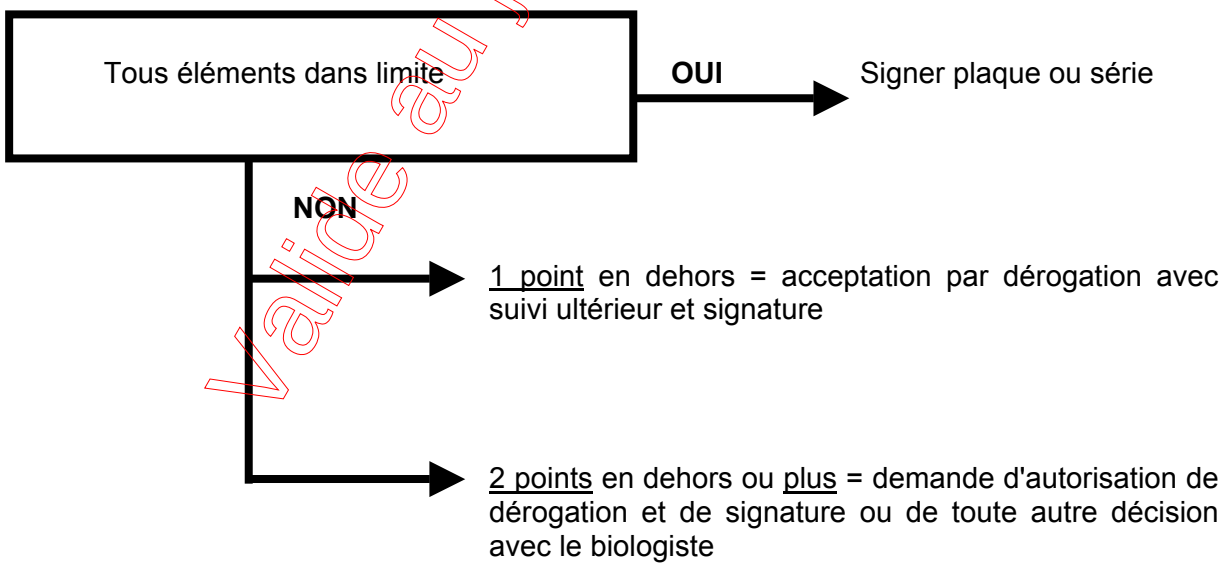
Ces règles s'appliquent couple réactif-automate par couple réactif-automate

1) Règle de validation analytique à chaque série

Eléments pris en compte :

Témoins (moyenne s'il y a lieu) ou contrôles fabricants(moyenne s'il y a lieu),
CIQ (moyenne s'il y a lieu),
Moyenne des échantillons négatifs,
Moyenne des échantillons positifs.

Règles :



2) Règles de suivi : cartes de contrôles

Les cartes de contrôles existent souvent dans le logiciel de pilotage des automates.

Validé au jour de l'impression

Celles-ci suivent alors les règles classiques de Westgard qu'il suffit d'appliquer.
Certains logiciels existent sur le marché pour permettre la gestion de ces cartes de contrôles et sont vendus par les distributeur de "contrôles de qualité". Il est alors nécessaire de réaliser une saisie des valeurs quand un transfert automatique n'existe pas.
Si aucun outil n'est disponible dans le laboratoire, un carte de contrôle (avec saisie des valeur à chaque série) peut être réalisée en intégrant des formules conditionnelles sur les cases où seront saisies les valeurs de manière à mettre en alerte le technicien. De plus, imposer une impression des cartes périodiquement (une fois pas semaine par exemple) permet de vérifier la dérive ou non du paramètre suivi et l'on sait l'importance d'un changement de lot, de la maintenance d'un matériel sur le couple réactif- automate. Cette carte est la "vigilance" laboratoire et permet de réagir et de décider des suites à donner.

Attention

Un oubli = un élément pris en compte en moins. Ceci est considéré comme un élément hors limites. *Avec deux oublis, la plaque ou la série est à refaire.*

Un changement de lot peut entraîner un décalage des valeurs des éléments pris en compte soit vers le haut soit vers le bas. Il est donc particulièrement recommander une grande vigilance au moment des changements de lot . Un re calcul de bornes ne pourra se faire qu'après acquisition des résultats de 20 plaques, voire la possibilité citée ci-dessus telle que pendant la période probatoire.

Pour les automates en système fermé, en plus du changement de lot, les vérifications des optiques peuvent avoir le même effet. Une carte de contrôle réalisée en moyenne cumulée, comme pendant la période probatoire mais de ce fait en continue, peut atténuer cet effet dans le temps.

11.3.2 Assurance de la qualité des résultats en Biologie Moléculaire – Résultats qualitatif obtenus à partir de quantité mesurable - Règles de la maîtrise statistique des procédés lors de la validation des séries

L'exemple pris ici est celui de résultats obtenus en technique TMA, avec comme grandeur mesurable les RLU (unité de luminescence).

11.3.2.1. Objectifs du contrôle de qualité

Le contrôle de qualité permet de :
Réaliser pour chaque série d'analyse la validation analytique du processus analytique,
Repérer les dérives du processus analytique dans le temps.

Pour cela, on part du principe qu'une série d'analyse regroupant les échantillons de patients, les contrôles ou calibrateurs fabricant et le ou les CIQ constituent un processus analytique et que la validation analytique devra se faire non seulement contrôle par contrôle (chaque contrôle fabricant et CIQ) mais aussi dans la globalité (Cf. ci dessous).

11.3.2.2. Organisation du contrôle de qualité

Définition des besoins

Les échantillons de CIQ sont pour la plupart commercialisés sous forme liquide , la charge viral contenu dans l'ampoule y est précisée, la valeur du signal obtenu ne l'est pas. En biologie moléculaire, il est particulièrement intéressant d'utiliser des échantillons qui donnent

Validé au jour de l'impression

des signaux forts (au moins supérieur à trois fois le seuil de détection de la trousse) et des échantillons de signaux faibles (proche du seuil de détection de la trousse).

Indicateurs de performances à déterminer

Du fait même de la nature non titrée ces CIQ, deux éléments de performances peuvent être suivis :

- La fidélité (reproductibilité grâce au CV),
- La justesse (biais par rapport à la valeur cible calculée après une période probatoire correspondant à l'accumulation d'au moins 20 valeurs).

De plus, il est important de signaler que certains contrôles, tels que les CIQ proches du seuil de détection, pourront faire l'objet d'un suivi en pourcentage de détectabilité (voir ci-dessous).

Mise en œuvre

Le CIQ sera choisi dans la mesure du possible de manière à obtenir un résultat soit (1) à signal fort, soit (2) à signal faible correspondant à un échantillon à détectabilité proche du seuil de détection de la trousse :

1- Un résultat positif dans touts les cas (contrôle de série ou "run control"),

2- Un résultat positif avec une charge viral plus faible afin d'avoir une idée des variations éventuelles de sensibilité de la méthode. Le niveau de charge virale faible, proche du seuil de détection du fabricant peut se définir en accord avec le fabricant. Le fabricant pourra ainsi concomitamment fournir le % de détectabilité de cet échantillon et le niveau de copies/ml contenu dans l'échantillon qui servira de base au suivi de ce dernier (contrôle de suivi).

Les CIQ doivent être déposés dans chaque série d'analyse en plus des contrôles ou calibrateurs fabriquant.

La périodicité est de ce fait liée à la fréquence de réalisation des analyses à savoir autant de fois que de série. Attention, la taille des séries doit être définie en fonction de l'activité du laboratoire et ceci plus particulièrement sur les automates fermés. Ces séries ne doivent pas être trop grandes, en effet, il est alors pris le risque que lors de la validation analytique (si celle-ci est invalide) l'ensemble des analyses soient à refaire.
Les CIQ sont à positionner soit de manière aléatoire si cela est possible, soit en fin de série (échantillon dit flottant) soit de manière fixe si cela permet de ne pas l'oublier.

Limites acceptables/performances

Les valeurs obtenues pour chaque série seront à confronter aux limites établies (cf. ci dessous). Périodiquement (chaque semaine par exemple) la carte de contrôle sera observée afin de vérifier l'absence de dérive.

Tout écart par rapport aux règles définies doit donner lieu à une décision de la part du biologiste (dérogation, période de surveillance, refaire série, recalculer limites acceptables…).

Il faut noter que la validation initiale sur site permet d'obtenir les éléments nécessaires aux premiers calculs.

11.3.2.3. Rappel de statistique pour le calcul des bornes

Validé pour diffusion

Aspect quantitatif

Les limites sont actuellement calculées de la manière suivante : Une extraction est faite vers Excel® des données quotidiennes. A partir de là sont intégrés dans une feuille de calcul :

Moyenne des RLU des témoins négatifs,
Moyenne des RLU des témoins positifs 1,
Moyenne des RLU des témoins positifs2,

Ratio du contrôle de run 1,
Ratio du contrôle de run 2,
Ratio du contrôle de suivi 1,
Ratio du contrôle de suivi2.

Sur l'ensemble des moyennes obtenues sont effectués les calcul suivants :

Moyenne, écart type (SD),
Puis les limites s'établissent ainsi,

Limite supérieure = moyenne + 3 SD/$\sqrt{\text{effectif de la population}}$,

Limite inférieure = moyenne – 3 SD/$\sqrt{\text{effectif de la population}}$.

L'effectif de la population est le nombre d'éléments contenu dans cette population, par exemple, si l'on dépose dans une série de trois témoins positifs, l'effectif de cette population est de trois.

Période probatoire

La difficulté est celle de la validation analytique pendant la période probatoire voir au moment de changement de lot quand il y a rupture dans la carte de contrôle. Pendant cette période afin de ne pas se retrouver confronter à un vide dans la validation analytique quant à l'analyse des résultats des valeurs de témoins et contrôle, il est proposé la solution suivante et ceci quelque soit la taille et la périodicité des séries :

Avec les résultats obtenus sur les trois première séries, réaliser un premier calcul de moyenne, écart type et calcul de limites. Puis, lors de la série suivante, cumuler les valeurs de témoins et contrôles avec les trois séries précédentes. On cumulera les valeurs avec un réajustement des limites à chaque série jusqu'à l'obtention minimale des 20 qui permettront de considérer le processus stabilisé pour obtenir des bornes définitives.

Aspect qualitatif

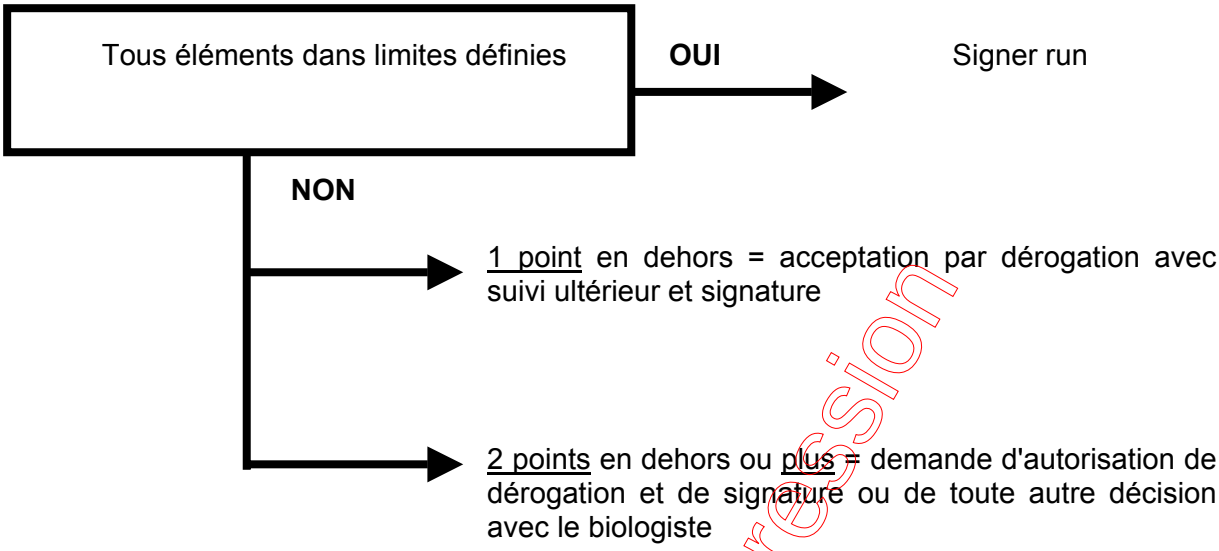
Pour les contrôles de suivi il est possible que certains résultats soient négatifs. En effet pour de faibles charges virales cela est possible et correspond à ce que l'on appelle simplement la loi du tout ou rien. Pour ce type d'échantillon un taux de détectabilité peut-être suivi. Ce taux est en accord avec celui qui aura été indiqué par le fabriquant par exemple :

30% de rejet ou de non détectabilité sur le contrôle à 30 UI/ml d'ARN,
30% de rejet ou de non détectabilité sur le 55 copies/ml d'ARN du HIV1.

Il faut , pour considérer une série valide qu'au fur et à mesure ce pourcentage soit suivi et reste dans les limites définies.

11.3.2.4 Règles

Validé au jour de l'impression



Attention

Un oubli = un élément pris en compte en moins. Ceci est considéré comme un élément hors borne. *Avec deux oublis, la série est à refaire.*

Un changement de lot peut entraîner un décalage des valeurs des éléments pris en compte soit vers le haut soit vers le bas. Il est donc particulièrement recommander une grande vigilance au moment des changements de lot. Un re-calcul de bornes ne pourra se faire qu'après acquisition des résultats de 20 séries, voire la possibilité citée ci-dessus telle que pendant la période probatoire.

Valide au jour de l'impression

12 MAITRISE DE LA DOCUMENTATION - METHODOLOGIE

Cette partie du guide est importante car si beaucoup d'informations et résultats sont collectés, ceux-ci doivent faire l'objet d'une procédure et document cohérent et clair, avec une acceptation formelle par le laboratoire de la validité opérationnelle de ses techniques.

- Présentation de la stratégie du contrôle de qualité. Les buts et les objectifs à atteindre.
- Détermination des spécifications ou limites acceptables (objectifs à atteindre).
- Mise en œuvre : matériaux, fréquence, règles, conduite à tenir en cas de rejets, …,
- Enregistrement et traitement statistique des données obtenues,
- Conclusion et décision quant à la validation opérationnelle de la technique au regard des limites acceptables fixées.

Valide au jour de l'impression

13 ANNEXE I – TABLEAUX DES SPECIFICATIONS POUR LES PRINCIPALES ANALYSES

13.1 Tableaux pour les principaux analytes de Biochimie (Vassault *et al.*, SFBC)

Ces tableaux de spécifications sont accessibles librement par le lien suivant,

Ann Biol Clin 1999, 57 : 685-95.

13.2 Tableaux pour les principaux analytes de Biologie Médicale (Ricos *et al.*)

Ces tableaux de spécifications, revus et mis à jour, sont accessibles librement par le lien suivant,

http://www.westgard.com/biodatabase1.htm.

Dans ces tableaux, seuls les limites souhaitables sont indiquées. Pour calculer les limites optimales et minimales, il convient d'utiliser les formules du § 9.6.1.3.1.

13.3 Tableaux pour les principales analyses de Biologie Médicale (CLIA)

Ces tableaux de spécifications sont accessibles librement par le lien suivant,

http://www.westgard.com/clia.htm.

Valide au jour de l'impression

14 ANNEXE II - DEFINITIONS

N.B. : *Les définitions indiquées ci-après sont celles utilisées dans le présent guide, à l'exception de celles déjà mentionnées dans le "guide de validation des méthodes en Biologie Médicale" (LAB GTA 04).*

Calibrage (d'un instrument de mesure) (4.29 VIM) : Positionnement matériel de chaque repère (éventuellement de certains repères principaux seulement) d'un instrument de mesure en fonction de la valeur correspondante du mesurande. Note Ne pas confondre "calibrage" et "étalonnage".

Echantillon : une ou plusieurs parties prélevées sur un système en vue de fournir des informations sur ce système, souvent pour servir de base à la décision concernant le système ou sa production.

Echantillon primaire (NF EN ISO 15189) : Spécimen = une ou plusieurs parties prélevées sur un système.

Etalon (VIM) : Mesure matérialisée, appareil de mesure, matériau de référence ou système de mesure destiné à définir, réaliser, conserver ou reproduire une unité ou une ou plusieurs valeurs d'une grandeur pour servir de référence.

Etalonner : réalisation d'étalonnage.

Etalonnage (VIM) : Ensemble des opérations établissant, dans des conditions spécifiées, la relation entre les valeurs de la grandeur indiquées par un appareil de mesure ou un système de mesure ou les valeurs représentées par une mesure matérialisée ou par un matériau de référence, et les valeurs correspondantes de la grandeur réalisées par des étalons.

Sensibilité d'un signe biologique : C'est le rapport du nombre de malades qui présentent le signe sur le nombre total de malade. Un signe est d'autant plus sensible qu'il est souvent présent dans la population de malade. Idem sensibilité diagnostique.

Sensibilité d'une technique : Rapport de la variation de signal mesuré à l'unité de concentration de l'analyte étudié. Idem sensibilité analytique.

Spécificité analytique (NF EN ISO 17511) : Capacité d'un mode opératoire de mesure à déterminer le mesurande.

Spécimen (NF EN ISO 15189) : Pour éviter une confusion avec le terme échantillon (au sens : groupe d'individus extrait d'une population), il est préférable de parler de spécimen pour désigner un prélèvement biologique (spécimen de sang, spécimen d'urines...).

Vérification (NF EN ISO 9000) : Confirmation par des preuves tangibles que les exigences spécifiées ont été satisfaites.

Validé au jour de l'impression

15 ANNEXE III - BIBLIOGRAPHIE

15.1 Références réglementaires

Arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale. (GBEA), J.O. Numéro 287 du 11 décembre 1999, page 18441 (NOR : MESP9923609A).

Arrêté du 26 avril 2002 modifiant l'arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale, J.O. Numéro 104 du 4 Mai 2002, page 8375 (NOR : SANP0221588A).

Directive 98/79/CE du parlement européen et du conseil du 27 octobre 1998, relative aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro,* JOCE 7.12.98, L.331 / 1-37.

Statistical Quality Control for Quantitative measurements: Principle and Définitions, 2nd edition (février 1999), C24-A2, vol 19 (5), NCCLS.

Essential Criteria for Quality Systems of Medical Laboratories (Eur J Clin Chem Clin Biochem 1997; 35(2): 123-132 © 1997) Walter de Gruyter Berlin New York.

CLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendments) regulation, (www.westgard.com/cliafinalrule4.htm).

15.2 Références normatives générales

Prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais. NF EN ISO/CEI 17025: Mai 2000 (AFNOR).

Laboratoires d'analyses de biologie médicale – Exigences particulières concernant la qualité et la compétence. NF EN ISO 15189: Octobre 2003 (AFNOR).

Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure (GUM). NF ENV 13005: Août 1999 (AFNOR).

Application de la statistique – Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure - Parties 1-6, NF ISO 5725 (1-6): Décembre1994 et rectificatifs techniques (AFNOR).

Application de la statistique – Carte de contrôle - Parties 0-4, NF X 06-031 (0-4): 1995 (AFNOR).

Estimer l'incertitude, Mesures et Essai. C. Perruchet et M. Priel, 2000, (AFNOR).

Lignes directrices relatives à l'utilisation d'estimations de la répétabilité, de la reproductibilité et de justesse dans l'évaluation de l'incertitude de mesure. ISO/TS 21748: Mars 2004 (AFNOR).

Essais d'aptitude des laboratoires par intercomparaison - Partie 1 : développement et mise en oeuvre de systèmes d'essais d'aptitude. ISO/CEI GUIDE 43-1: Janvier 1997 (AFNOR).

Systèmes de management de la qualité - Principes essentiels et vocabulaire. NF EN ISO 9000 : Décembre 2000 (AFNOR).

Valide au jour de l'impression

Le REMIC, Référentiel en Microbiologie médicale (Bactériologie et Mycologie humaine), 2eme édition, janvier 2004 (2M2).

15.3 Documentation Cofrac - EA

Document Cofrac LAB REF 02, "Accréditation des laboratoires selon la norme NF EN ISO/CEI 17025 – Prescriptions".

Document Cofrac LAB LABM REF 02, "Accréditation des Laboratoires d'Analyses de Biologie Médicale selon la norme NF EN ISO 15189 – Prescriptions", en projet à la date de parution de ce guide.

Document Cofrac LAB GTA 04, "Guide de validation des méthodes en Biologie Médicale".

Documents Cofrac d'accréditation Cofrac en Biologie Médicale (Programmes n° 143, 145, 147, 155 et 168, respectivement, Analyses en Biochimie, Analyses en Hématologie, Analyses en Immunologie, Analyses en Bactériologie, et Analyses en Toxicologie et suivi thérapeutique pharmacologique).

Document Cofrac LAB REF 05, "Règlement d'accréditation", document décrivant le processus d'accréditation des laboratoires par le Cofrac.

Document Cofrac LAB LABM REF 04, "Accréditation des Laboratoires d'Analyses de Biologie Médicale suivant la norme ISO 15189 - Politique Cofrac".

Document EA-4/16 "Lignes directrices d'EA pour l'expression de l'incertitude des résultats d'essais quantitatifs".

15.4 Contrôle de qualité

Cartes de contrôle de Shewhart. ISO 8258: Décembre 1991 et rectificatif technique 1, ISO 8258/AC1: Avril 1993 (ISO).

Méthodes statistiques utilisées dans les essais d'aptitude par comparaisons interlaboratoires. ISO/FDIS 13528: 2005 (ISO).

Guide pratique pour la validation, le contrôle qualité, et l'estimation de l'incertitude d'une méthode d'analyse œnologique usuelle. M. M Dubernet, juin 2003, FV 1189, OIV.

Guide EURACHEM/CITAC, Quantifier l'incertitude dans les mesures analytiques, 2eme édition, 2000 (www.lne.fr).

15.5 Contrôle de qualité en Biologie Médicale

The use of control charts in the clinical laboratory, S. Levey et E.R. Jennings, AM J Clin Pathol 1950, 20 : 1059-66.

Graphical diagnosis of interlaboratory test results, W.J. Youden, Industrial Quality Control, 1959, 15 : 24-28.

The sample, the procedure, and the laboratory, W.J. Youden, Anal Chem, 1960. 13 : 23-37.

Valable jusqu'à la date de l'impression

Analyses de biologie médicale : spécification et normes d'acceptabilité à l'usage de la validation des techniques, A. Vassault, D. Grafmeyer, J. de Graeve, R. Cohen, A. Beaudonnet, J. Bienvenu. Ann Biol Clin 1999, 57 : 685-95.

Internal quality control: planning and implementation strategies, J.O. Westgard, Ann Clin Biochem, 2003, 40 : 593-611.

A multi-rule Shewhart chart for quality control in clinical chemistry, J.O. Westgard, P.L. Barry, M.R. Hunt, T. Groth, Clin Chem, 1981, 27/1 : 493-501.

Cost-effective quality control : managing the quality and productivity of analytical processes, J.O. Westgard, P.L. Barry, AACC Press, 1986, ISBN 0 915274 35 3.

Power functions for statistical control rules, J.O. Westgard, T. Groth, Clin Chem, 1979, 25/6 : 883-889.

Charts of operational process specifications ("OPSpecs Charts") for assessing the precision, accuracy, and quality control needed to satisfy proficiency testing performance criteria, J.O. Westgard, Clin Chem, 1992, 38/7 : 1226-1233.

Six sigma quality design & control – Desirable precision and requisite QC for laboratory measurement processes, J.O. Westgard, Westgard QC Inc., 2001, ISBN 1 886958 16 5.

Biological Variation: From Principles to Practice, C.G. Fraser, Washington, DC: AACC Press, 2001, ISBN 1-890883-49-2.

Current databases on biological variation : pros, cons and progress, C. Ricos, V. Alvarez, F. Cava, J.V. Garcia-Lario, A. Hernandez, C.V. Jimenez, J. Minchinela, C. Perich, M. Simon, Scand J Clin Lab Invest 1999, 59 : 491-500.

Requirements for Reproducibility, Trueness and Error of Measurement in Internal Quality Control Schemes, P. Bonvicini, P. Metus, M.A. Pavon, T. Massimo, Clin Chem Lab Med 2003, 41 (5) : 693-699.

Proposed quality specifications for the acceptability of analytical systems for clinical chemistry, C.G. Fraser, P. Hyltoft Petersen, C. Ricos, R. Haeckel, Eur J Clin Chem Clin Biochem 1992, 30 : 311-317.

Variability of the biological variation, X. Fuentes-Arderiu, Scand J Clin Lab Invest 2002, 62 : 561-564.

CLIA Final Rule, Part IX – Appropriate QC Procedures, http://www.westgard.com/cliafinalrule9.htm

Démystifier Six Sigma, comment améliorer vos processus, James Lamprecht, 2003, Edition AFNOR.

The Use of Patient Data for Process Control: It's Time has Arrived, G.S. Cembrowski, Clin Chem 2000, 46(No. 6 Supplement) : S18-S19.

The 'average of normals' method of quality control, R.G. Hoffman et M.E. Waid, Am J Clin Pathol 1984, 81 : 492-499.

Validé au jour de l'impression

Assessment of "average of normals" quality control procedures and guidelines for implementation, G.S. Cembrowski, E.P. Chandler, J.O. Westgard, Am J Clin Pathol 1984, 81 : 492-497.

Design and assessment of average of normals (AON) patient data algorithms to maximize run lengths for automatic process control, J.O. Westgard, F.A. Smith, P.J. Mountain, S. Boss, Clin Chem 1996, 42 : 1683-1688.

Exponentially adjusted moving mean procedure for quality control: an optimized patient sample control procedure, F.A. Smith, S.H. Kroft, Am J Clin Pathol, 1996, 105 : 44-51.

Le contrôle de qualité interne au laboratoire : progrès et perspective, Ph. Marquis, 2002, JIB, Paris.

Contrôle de qualité interne : faux rejets et période préliminaire P. Marquis, Ann Biol Clin. Volume 59, Numéro 2, 214-8, Mars - Avril 2001

Clinicals Laboratory Standards Institute (ex NCCLS) : Quality control commercially prepared M22 A3, Performance standards for antimicrobial disk susceptibility, tests M2 A8.

NCCLS Guidelines: EP-10-T 1989 (clinical chemistry). LA1-A2 1994 (radioimmunoassays). EP5-T2 1992 (clinical chemistry analysers).

Manual of clinical Microbiology, Balows, A. Hausler, W.J. Hermann, K.L. Isemberg, H.D. Ishadomy, H.J. 1991., (5ed). ASM, Washington, DC.

Evolving approaches to management of Quality in clinical microbiology, Bartlett R.C., MarySullivan M., Clin. Microbiol. Review, janv 1994, 7, 1: 55-88.

Anticrobial susceptibility testing, New item in the field of European standardisation, Charler-Bret N., Poisson F., dec 2004, RICAI congrès, Paris.

Résultats d'une étude multicentrique (pour les automates), Quentin C., Flandrois J.-P., Sirot J., in Flandrois J.-P., Courvalin, l'Antibiogramme Automatisé 1988, Vigot éditeur.

Technical recommandations for *in vitro* susceptibility testing, Clinical Microbiology an Infection, dec 1996, S16 Vol 2 supplement 1.

Practical application of an internal Quality Control using Sirscan 200 automatic system for antibiotic susceptibility tests, Honderlick P, Baheux S, Vignon D, Ghnassia JC, dec 2004, RICAI Congrès, Paris.

Disk Diffusion Susceptibility Testing, Quality Control in Clinical Microbiology Procedures Handbook, editor H.D. Isemberg ASM Press, Washington DC Suppl. Chap 5.1.10 - 5.1.12.

Validé au bon de l'impression

15.6 Sites Internet

James O. Westgard, PhD, www.westgard.com

Ph. Marquis, www.multiqc.com, www.marquis-soft.com

Société Française de Microbiologie, www.sfm.asso.org

LABAC, Réseau National des Laboratoires accrédités, www.labac.org

Cofrac, Comité Français d'Accréditation, www.cofrac.fr

AFNOR, Association Française de Normalisation, www.afnor.fr

HAs, Haute Autorité de santé (ex ANAES), www.has-sante.fr

EA, European co-operation for Accreditation, www.european-accreditation.org

Valide au jour de l'impression

Lista domeniilor pentru care se solicită acreditarea LM

OEC:Spital Clinic de Boli Infecţioase Iaşi – Laborator analize medicale

Nr.	Material analizat (Proba)[1]	Analiza / principiul analitic[2]	Parametrii determinaţi[3]	Documentul de referinţă[4]	Principalele echipamente de analiză şi/sau mijloace de măsurare care au un efect semnificativ asupra rezultatelor analizelor	Frecvenţa analizei[5]
1. HEMATOLOGIE						
1.	Sange	Hemoleucograma completa - focusarea hidrodinamică (impedanţa), metoda citometriei în flux (utilizand un laser cu semiconductor) şi metoda SLS - hemoglobină. - microscopie pentru examen citologic al frotiului sanguin	Celule albe sanguine Hematii Trombocite Hemoglobina Hematocrit Hemoglobin eritrocitara medie Volumul mediu trombocitar Limfocite in procent Monocite in procent Granulocite in procent Indice de distributie eritrocitar P-LCR – (platelet large cell ratio) MCH MCHC PCT PDW Examen citologic al frotiului sanguin	PSL –01, Manualul de operare al analizorului Sysmex XS-1000i elaborat de Sysmex Corporation, Kobe, Japan 2005 Păun,R.,,Tratat de medicină internă Hematologie ,Ed.Medicală Bucureşti 1997 Kondi,V. ,, Laborator clinic-Hematologie'' Ed. Medicala 1981	Analizor hematologic Sysmex XS-1000i seria 62269	Zilnic
2.	Sange	Determinare VSH Metoda Westergreen	Determinarea vitezei de sedimentare a hematiilor	PSL -01 "Hematologie clinica",V. Condi Ed. Medicala	Stativ specific de citire vacutainere,	zilnic
3.	Sange	Determinari imunohematologice prin hemaglutinare	Grupe de sange AOB, Factor Rh	PSL -01 Insert kit-uri reactivi	Kituri de reactivi (Metoda Beth-Vincent si Simonin)	Săptămânal
		2.CHIMIE CLINICA				

1 Se va completa cu denumirea materialului analizat (probă) - (de ex: ser, sânge, urină, etc.).

2 Se va completa cu tipul şi denumirea analizei din Nomenclatorul Investigaţiilor de laborator – Ministerul Sănătăţii, feb. 2006, precum şi cu principiul analitic aferent fiecărei analize.

3 Se vor preciza parametrii analizaţi de laborator.

4 Se va completa cu denumirea documentului de referinţă al metodei de analiză, pe baza căruia se efectuează analiza (cod standard, procedură, instrucţiune, etc).

5 Se va completa frecventa analizei: zilnic, saptamanal, lunar sau ocazional

Nr.	Material analizat (Proba)[1]	Analiza / principiul analitic[2]	Parametrii determinaţi[3]	Documentul de referinţă[4]	Principalele echipamente de analiză şi/sau mijloace de măsurare care au un efect semnificativ asupra rezultatelor analizelor	Frecvenţa analizei[5]
4.	Ser	Determinari biochimice prin turbidimetrie si fotometrie	Uree serica Fosfataza alcalina Creatinina serica Calciu seric total Magneziu seric Fier seric Gamma GT Glucoza serica Colesterol seric total Trigliceride serice GOT (Aspartan aminotran-sferaza) GPT (Alanin aminotran-sferaza.) Amilaza Acid Uric HDL colesterol LDL colesterol	1.PSL - 02 Manual de operare analizor biochimic Daytona Reactivi	Analizor biochimic Daytona seria ????	zilnic
5.	Plasma	Determinari pentru in vestigarea prin metode conventionale a hemostazei	Timp Quick -INR	PSL – 03 “Hematologie clinica”,V. Condi Ed. Medicala	Conventional Kituri de reactivi	zilnic
6.	Ser	Determinari electroforetice	Fractiuni proteice: albumina, alfa 1 globulina, alfa 2 globulina, beta globuline, gama globuline)	PSL - 04 Manual de operare echipamentului	DVSE- Sebia , seria 4431	zilnic
7.	urina	Analiza biochimica a urinii -colorimetrie şi sediment urinar – examinare microscopica	Biochimie urina: -densitate -pH -nitriti -proteine urinara -glucoza urinara -corpi cetonici -urobilinogen -bilirubina -eritrocite -leucocite	PSL - 05 Manual utilizare analizor Instructiuni stripuri	Analizor automat URISYS seria UX 09604673 Stripuri urina	zilnic
3. IMUNOLOGIE						

Nr.	Material analizat (Proba)[1]	Analiza / principiul analitic[2]	Parametrii determinaţi[3]	Documentul de referinţă[4]	Principalele echipamente de analiză şi/sau mijloace de măsurare care au un efect semnificativ asupra rezultatelor analizelor	Frecvenţa analizei[5]
8.	Ser	Determinari serologice prin aglutinare	RPR - rapid plasma reagin Antistreptolizina O (ASLO) CRP,	PSL – 06 Insert-urile reactivilor	Kituri analiză	zilnic
9.	Ser	Determinari imunocromatografie	Depistare Helicobacter pylori Ag HBs (screening) Anti HCV	PSL - 06 Insertul kit-ului	Kit analiza	zilnic
4.BACTERIOLOGIE						
10	Secretii faringiene	Examenul microbiologic al exsudatului faringian (examen microscopic, cultura, identificare bacteriana)	Streptococ beta hemolitic Staphylococcus aureus (cg+),	PSL - 07 Tratat de microbiologie clinica –Dumitru Buiuc Si Marian Negut-2008	Camera termostat seria 4182 Hotă cu flux laminar seria 20908 Microscop tip Opympus, seria 67211	zilnic
11.	Secretii nazale	Examenul microbiologic al exsudatului nazal (examen microscopic, cultura, identificare bacteriana)	Streptococ beta hemolitic Staphylococcus aureus (cg+),	PSL - 07 Tratat de microbiologie clinica –Dumitru Buiuc Si Marian Negut-2008	Camera termostat seria 4182 Hotă cu flux laminar seria 20908 Microscop tip Opympus, seria 67211	zilnic
12.	Secretii uretrale,otice, puroi	Urocultura (examen microscopic nativ si colorat, cultura, identificare bacteriana si fungica)	Enterobacteriacee Enterococcus spp Staphylococcus aureus (cg+), Pseudomonas spp. Candida spp.	PSL - 07 Tratat de microbiologie clinica –Dumitru Buiuc Si Marian Negut-2008	Camera termostat seria 4182 Hotă cu flux laminar seria 20908 Microscop tip Opympus, seria 67211	zilnic
13.	Urocultura Urina	Examen microscopic nativ si colorat, cultura, identificare bacteriana si fungica)	Enterobacteriacee Enterococcus spp Staphylococcus aureus (cg+), Pseudomonas spp. Candida spp., etc	PSL - 08 Tratat de microbiologie clinica –Dumitru Buiuc Si Marian Negut-2008	Camera termostat seria 4182 Hotă cu flux laminar seria 20908 Microscop tip Opympus, seria 67211	zilnic
14.	Materii fecale	Coprocultura (examen microscopic, cultura, identificare bacteriana)	Shigella spp. Salmonella spp. Yersinia enterocolitica O3/O9 E. coli EPEC E.coli EHEC O157H7 Campylobacter spp.patogene Vibrio cholerae/ Aeromonas spp. patogene Stafilococ auriu Candida spp.	PSL - 09 Tratat de microbiologie clinica –Dumitru Buiuc Si Marian Negut-2008	Camera termostat seria 4182 Hotă cu flux laminar seria 20908 Microscop tip Opympus, seria 67211	zilnic

Nr.	Material analizat (Proba)[1]	Analiza / principiul analitic[2]	Parametrii determinaţi[3]	Documentul de referinţă[4]	Principalele echipamente de analiză şi/sau mijloace de măsurare care au un efect semnificativ asupra rezultatelor analizelor	Frecvenţa analizei[5]
			Bacterii condotionat patogene in TIA			
15.	Materii fecale	Examen coproparazitologic /ex. microscopic	Giardia intestinalis Balntidium colli Hymenolepis spp. Taenia spp. Strongyloides stercoralis Ascaris lumbricoides, Trichiuris trichiura, Enterobius vermicularis Cryptosporidium spp . Isospora belli Entamoeba coli Blastocystis hominis Chilomastix mesnili	PSL - 10 Tratat de microbiologie clinica –Dumitru Buiuc Si Marian Negut-2008	Microscop ML 4 M IMU – 5178	zilnic
16.	Examen Lichid de punctie (LCR, pleural, ascita, articular,)	Examen microscopic nativ si colorat, cultura, identificare bacteriana si fungica)	Enterobacteriacee Enterococcus spp Staphylococcus aureus (cg+), Pseudomonas spp. Candida spp., si alti fungi	PSL - 11 Tratat de microbiologie clinica –Dumitru Buiuc Si Marian Negut-2008	Camera termostat seria 4182 Hotă cu flux laminar seria 20908 Microscop tip Opympus, seria 67211	zilnic

Manager Tehnic OEC
Numele şi prenumele
Dr. Rodica Fântânaru

Semnatura

NORME TEHNICE din 6 februarie 2007 privind curăţarea, dezinfecţia şi sterilizarea în unităţile sanitare

CAPITOLUL I: Definiţii

Art. 1

În sensul prezentului ordin, termenii de mai jos au următoarele semnificaţii:

- autorizaţie - actul administrativ prin care produsul biocid este autorizat pentru plasarea pe piaţă, pe teritoriul României, de către autoritatea competentă, în urma unei cereri formulate de solicitant, conform Hotărârii Guvernului nr. **956/2005** privind plasarea pe piaţă a produselor biocide, cu modificările şi completările ulterioare;
- înregistrare - actul administrativ prin care autoritatea competentă, în urma unei cereri formulate de un solicitant, permite plasarea pe piaţă, pe teritoriul României, a unui produs biocid cu risc scăzut, după verificarea dosarului ce trebuie să fie conform cu cerinţele cuprinse în Hotărârea Guvernului nr. **956/2005** privind plasarea pe piaţă a produselor biocide, cu modificările şi completările ulterioare;
- curăţare - etapa preliminară obligatorie, permanentă şi sistematică în cadrul oricărei activităţi sau proceduri de îndepărtare a murdăriei (materie organică şi anorganică) de pe suprafeţe (inclusiv tegumente) sau obiecte, prin operaţiuni mecanice sau manuale, utilizându-se agenţi fizici şi/sau chimici, care se efectuează în unităţile sanitare de orice tip, astfel încât activitatea medicală să se desfăşoare în condiţii optime de securitate;
- dezinfecţie - procedura de distrugere a microorganismelor patogene sau nepatogene de pe orice suprafeţe (inclusiv tegumente), utilizându-se agenţi fizici şi/sau chimici;
- produse biocide - substanţele active şi preparatele conţinând una sau mai multe substanţe active, condiţionate într-o formă în care sunt furnizate utilizatorului, având scopul să distrugă, să împiedice, să facă inofensivă şi să prevină acţiunea sau să exercite un alt efect de control asupra oricărui organism dăunător, prin mijloace chimice sau biologice;
- substanţă activă - o substanţă sau un microorganism, inclusiv un virus sau o ciupercă (fung), ce are o acţiune generală sau specifică asupra ori împotriva organismelor dăunătoare;
- produs detergent-dezinfectant - produsul care include în compoziţia sa substanţe care curăţă şi substanţe care dezinfectează. Produsul are acţiune dublă: curăţă şi dezinfectează;
- dezinfecţie de nivel înalt - procedura de dezinfecţie prin care se realizează distrugerea bacteriilor, fungilor, virusurilor şi a unui număr de spori bacterieni până la 10^{-4};
- dezinfecţie de nivel intermediar (mediu) - procedura de dezinfecţie prin care se realizează distrugerea bacteriilor în formă vegetativă, inclusiv Mycobacterium tuberculosis în formă nesporulată, a fungilor şi a virusurilor, fără acţiune asupra sporilor bacterieni;
- dezinfecţie de nivel scăzut - procedura de dezinfecţie prin care se realizează distrugerea majorităţii bacteriilor în formă vegetativă, a unor fungi şi a unor virusuri, fără acţiune asupra micobacteriilor, sporilor de orice tip, viruşilor fără înveliş şi a mucegaiurilor;
- antiseptic - produsul care previne sau împiedică multiplicarea ori inhibă activitatea microorganismelor; această activitate se realizează fie prin inhibarea dezvoltării, fie prin distrugerea lor, pentru prevenirea sau limitarea infecţiei la nivelul ţesuturilor;
- biofilm - caracteristica unui agent microbiologic de a adera şi a se fixa de o suprafaţă imersată prin secreţia unor polimeri, îngreunând astfel accesul substanţelor active antimicrobiene;
- materiovigilenţă - obligaţia de a declara incidentele sau riscurile de producere a unor incidente legate de utilizarea dispozitivelor medicale;
- sterilizare - operaţiunea prin care sunt eliminate sau omorâte microorganismele, inclusiv cele aflate în stare vegetativă, de pe obiectele inerte contaminate, rezultatul acestei operaţiuni fiind starea de sterilitate. Probabilitatea

teoretică a existenţei microorganismelor trebuie să fie mai mică sau egală cu 10^{-6};

- sterilizare chimică - un nivel superior de dezinfecţie care se aplică cu stricteţe dispozitivelor medicale reutilizabile, destinate manevrelor invazive, şi care nu suportă autoclavarea, realizând distrugerea tuturor microorganismelor în formă vegetativă şi a unui număr mare de spori.

CAPITOLUL II: Curăţarea

Art. 2

(1) Curăţenia reprezintă rezultatul aplicării corecte a unui program de curăţare.

(2) Suprafeţele şi obiectele pe care se evidenţiază macro- sau microscopic materii organice ori anorganice se definesc ca suprafeţe şi obiecte murdare.

Art. 3

Curăţarea se realizează cu detergenţi, produse de întreţinere şi produse de curăţat.

Art. 4

În utilizarea produselor folosite în activitatea de curăţare se respectă următoarele reguli fundamentale:

a) respectarea tuturor recomandărilor producătorului;

b) respectarea normelor generale de protecţie a muncii, conform prevederilor în vigoare;

c) este interzis amestecul produselor;

d) este interzisă păstrarea produselor de curăţare în ambalaje alimentare;

e) produsele se distribuie la locul de utilizare, respectiv la nivelul secţiilor sau compartimentelor, în ambalajul original sau în recipiente special destinate, etichetate cu identificarea produsului.

Art. 5

(1) Urmărirea şi controlul programului de curăţare revin personalului unităţii sanitare, care, conform legislaţiei în vigoare, este responsabil cu supravegherea şi controlul infecţiilor nosocomiale din unitate.

(2) Programul de curăţare şi dezinfecţie este parte integrantă a planului propriu unităţii sanitare de supraveghere şi control ale infecţiilor nosocomiale.

Art. 6

Depozitarea produselor şi a ustensilelor folosite la efectuarea curăţării se face respectându-se următoarele:

a) în unitatea sanitară, la nivel central, trebuie să existe spaţii special destinate depozitării produselor şi ustensilelor aflate în stoc, folosite în procesul de efectuare a curăţării;

b) spaţiile trebuie să asigure menţinerea calităţii iniţiale a produselor până la utilizare;

c) spaţiile de depozitare trebuie să îndeplinească următoarele condiţii:

- pavimentul şi pereţii trebuie să fie impermeabili şi uşor de curăţat;
- zona de depozitare trebuie să permită aranjarea în ordine a materialelor de curăţare şi accesul uşor la acestea;
- trebuie să existe aerisire naturală;
- trebuie să existe iluminat corespunzător;
- gradul de umiditate să fie optim păstrării calităţii produselor;

d) în fiecare secţie sau compartiment trebuie să existe încăperi special destinate depozitării produselor şi ustensilelor utilizate pentru efectuarea curăţării, aflate în rulaj, şi pentru pregătirea activităţii propriu-zise;

e) încăperile de depozitare de pe secţii, respectiv compartimente, trebuie să îndeplinească următoarele condiţii:

- pavimentul şi pereţii trebuie să fie impermeabili şi uşor de curăţat;
- trebuie să existe aerisire naturală;
- trebuie să existe iluminat corespunzător;
- locul de organizare a activităţii, sursa de apă şi suprafaţa zonei de depozitare trebuie să permită aranjarea în ordine a materialelor de întreţinere;
- trebuie să existe chiuvetă cu apă potabilă rece şi caldă, dotată pentru igiena personalului care efectuează curăţarea, conform prevederilor legislaţiei în vigoare;
- trebuie să existe chiuvetă sau bazin cu apă potabilă, pentru dezinfecţia şi spălarea ustensilelor folosite la efectuarea curăţării; dezinfecţia, spălarea şi uscarea materialului moale folosit la curăţare se pot face utilizându-se maşini de spălat cu uscător sau maşini de spălat şi uscătoare;
- trebuie să existe suport uscător pentru mănuşile de menaj, mopurile, periile şi alte ustensile;
- trebuie să existe pubelă şi saci colectori de unică folosinţă pentru deşeuri, conform legislaţiei în vigoare.

Art. 7

(1) Întreţinerea ustensilelor folosite pentru efectuarea curăţării se face zilnic, după fiecare operaţiune de curăţare şi la sfârşitul zilei de lucru; ustensilele utilizate se spală, se curăţă, se dezinfectează şi se usucă. Curăţarea şi dezinfecţia ustensilelor complexe se efectuează în funcţie de recomandările producătorului.

(2) Personalul care execută operaţiunile de curăţare şi dezinfecţie a materialului de curăţare trebuie să poarte mănuşi de menaj sau mănuşi de latex nesterile.

CAPITOLUL III: Dezinfecţia

Art. 8

(1) Dezinfecţia este procedura care se aplică numai după curăţare. Se face excepţie de la această regulă atunci când pe suportul respectiv sunt prezente materii organice.

(2) În orice activitate de dezinfecţie se aplică măsurile de protecţie a muncii, conform prevederilor legislaţiei în vigoare, pentru a preveni accidentele şi intoxicaţiile.

Art. 9

Evaluarea dezinfecţiei se face prin tehnici specifice descrise în Farmacopeea Română.

SECŢIUNEA A: Dezinfecţia prin mijloace fizice

Art. 10

(1) Dezinfecţia prin căldură uscată sau flambarea este utilizată exclusiv în laboratorul de microbiologie.

(2) Este interzisă flambarea instrumentului medico-chirurgical.

Art. 11

Dezinfecţia prin căldură umedă se utilizează numai în cazul spălării automatizate a lenjeriei şi a veselei, cu condiţia atingerii unei temperaturi de peste 90°C.

Art. 12

(1) Dezinfecţia cu raze ultraviolete este indicată în dezinfecţia suprafeţelor netede şi a aerului în boxe de laborator, săli de operaţii, alte spaţii închise, pentru completarea măsurilor de curăţare şi dezinfecţie chimică.

(2) Aparatele de dezinfecţie cu raze ultraviolete, autorizate conform prevederilor legale în vigoare, sunt însoţite de documentaţia tehnică, ce cuprinde toate datele privind caracteristicile şi modul de utilizare ale aparatelor, pentru a asigura o acţiune eficace şi lipsită de nocivitate.

SECŢIUNEA B: Dezinfecţia prin mijloace chimice

Art. 13

Dezinfecţia prin mijloace chimice se realizează prin utilizarea produselor biocide.

Art. 14

(1) Produsele biocide utilizate în unităţile sanitare se încadrează în grupa principală I, tip de produs 1 şi 2, conform anexei nr. 2 la Hotărârea Guvernului nr. **956/2005** privind plasarea pe piaţă a produselor biocide, cu modificările şi completările ulterioare.

(2) Biocidele încadrate, conform prevederilor legale în vigoare, în tipul I de produs sunt utilizate pentru:

a) dezinfecţia igienică a mâinilor prin spălare;

b) dezinfecţia igienică a mâinilor prin frecare;

c) dezinfecţia pielii intacte.

(3) Biocidele încadrate, conform prevederilor legale în vigoare, în tipul 2 de produs sunt utilizate pentru:

a) dezinfecţia suprafeţelor;

b) dezinfecţia dispozitivelor medicale prin imersie, manual, în băi cu ultrasunete, sau la maşini automate;

c) dezinfecţia lenjeriei (material moale).

Art. 15

Etichetarea acestor produse trebuie să respecte prevederile legislaţiei în vigoare.

Art. 16

Dezinfecţia prin mijloace chimice reprezintă metoda principală de prevenire a infecţiilor în unităţile sanitare. Dezinfectantul chimic, în funcţie de compoziţie şi concentraţie, poate să inhibe creşterea microorganismelor (bacteriostatic, fungistatic, virustatic) sau să aibă o acţiune letală asupra microorganismelor (bactericid, fungicid, virucid, sporicid).

Art. 17

(1) Dezinfectanţii utilizaţi în domeniul medical se autorizează/înregistrează conform prevederilor legislaţiei în vigoare.

(2) În domeniul medical nu se utilizează biocide la concentraţii active în domeniul casnic.

Art. 18

După natura substanţelor chimice care intră în compoziţia unui dezinfectant, aceştia se împart, în funcţie de modul de acţiune, în dezinfectanţi care acţionează prin toxicitate celulară şi dezinfectanţi care acţionează prin oxidare celulară.

Art. 19

Dezinfectanţii care acţionează prin toxicitate celulară conţin substanţe active care blochează sinteza proteică la nivel citoplasmatic, precum şi proteinele responsabile de replicarea ADN-ului sau ARN-ului microorganismelor respective.

Art. 20

Dezinfectanţii care acţionează prin oxidare celulară conţin substanţe active care oxidează conţinutul citoplasmatic inhibând sinteza proteică, dezmembrând şi acizii nucleici purtători ai informaţiilor genetice.

Art. 21

În funcţie de tipul microorganismelor distruse, de timpul de contact necesar şi de concentraţia utilizată, nivelurile de dezinfecţie sunt:

a) sterilizare chimică;

b) dezinfecţie de nivel înalt;

c) dezinfecţie de nivel intermediar;

d) dezinfecţie de nivel scăzut.

Art. 22

Sterilizarea chimică realizează distrugerea tuturor microorganismelor în formă vegetativă şi a unui număr mare de spori bacterieni, în cazul instrumentarului medical termosensibil.

Art. 23

Este obligatorie respectarea concentraţiilor şi a timpului de contact specificate în autorizaţia/înregistrarea produsului.

Art. 24

Etapele sterilizării chimice sunt:

a) dezinfecţie, cel puţin de nivel mediu, urmată de curăţare;

b) sterilizare chimică prin imersie;

c) clătire cu apă sterilă.

Art. 25

Sterilizarea chimică se realizează cu produse biocide autorizate/înregistrate, conform prevederilor legale în vigoare.

Art. 26

(1) În vederea unei corecte practici medicale şi a eliminării oricărui risc în domeniul sanitar, soluţia chimică de sterilizare nu se va folosi mai mult de 48 de ore de la preparare, în cuve cu capac, sau maximum 24 de ore, în cazul utilizării în instalaţii cu ultrasunete. În ambele situaţii, numărul maxim de proceduri (cicluri de sterilizare) este de 30.

(2) În cazul soluţiilor care au termen de valabilitate mai mare de 48 de ore şi nu s-a efectuat numărul de proceduri permis, este obligatorie testarea concentraţiei soluţiei cu benzi indicatoare speciale la începutul fiecărei noi proceduri, până la epuizarea celor permise sau până la termenul maxim de valabilitate specificat în fişa tehnică a produsului.

Art. 27

Pentru dezinfecţia de nivel înalt, intermediar şi scăzut este obligatorie respectarea concentraţiilor şi a timpului de contact specifice fiecărui nivel de dezinfecţie, care sunt precizate în autorizaţia/înregistrarea produsului.

Art. 28

Etapele dezinfecţiei sunt:

a) dezinfecţia de nivel scăzut, urmată de curăţare, sau curăţarea, în funcţie de suportul ce urmează să fie tratat;

b) dezinfecţia de nivel dorit, în funcţie de suportul ce urmează să fie tratat;

c) clătirea.

Art. 29

Dezinfecţia se realizează cu produse şi substanţe chimice autorizate/înregistrate, conform prevederilor legale în vigoare.

Art. 30

Termenul antiseptic se utilizează pentru produsele destinate dezinfecţiei tegumentului şi/sau a mâinilor.

Art. 31

Criteriile de utilizare şi păstrare corectă a produselor antiseptice sunt următoarele:

1. un produs antiseptic se utilizează numai în scopul pentru care a fost autorizat/înregistrat;

2. se respectă întocmai indicaţiile de utilizare de pe eticheta produsului;

3. se respectă întocmai concentraţia şi timpul de contact precizate în autorizaţia/înregistrarea produsului;

4. pe flacon se notează data deschiderii şi data limită până la care produsul poate fi utilizat;

5. la fiecare utilizare, flaconul trebuie deschis şi închis corect;

6. flaconul se manipulează cu atenţie; este interzisă atingerea gurii flaconului, pentru a nu se contamina;

7. este interzisă transvazarea în alt flacon;

8. este interzisă recondiţionarea flaconului;

9. este interzisă completarea unui flacon pe jumătate golit în alt flacon;
10. este interzisă amestecarea, precum şi utilizarea succesivă a două produse antiseptice diferite;
11. se recomandă alegerea produselor antiseptice care se utilizează ca atare şi nu necesită diluţie;
12. sunt de preferat produsele condiţionate în flacoane cu cantitate mică;
13. după aplicare, antisepticul nu se îndepărtează prin clătire, deoarece se pierde efectul remanent; excepţie fac cele utilizate în neonatologie, pediatrie şi pentru irigarea cavităţilor, la care clătirea este necesară după fiecare aplicare;
14. se acordă o atenţie deosebită compoziţiei produsului pentru utilizarea antisepticului la nou-născuţi;
15. se păstrează numai în flacoanele originale, pentru a se evita contaminarea lor şi pentru a nu se pierde informaţiile de pe eticheta flaconului;
16. flacoanele trebuie păstrate la adăpost de lumină şi departe de surse de căldură.

Art. 32

Igiena mâinilor şi dezinfecţia pielii se fac după cum urmează:
1. Spălarea mâinilor se face utilizându-se apă şi săpun; spălarea igienică a mâinilor nu este un substitut pentru dezinfecţia igienică a mâinilor.
2. Dezinfecţia igienică a mâinilor se face prin spălare sau frecare, utilizându-se un produs antiseptic. Un dispenser trebuie utilizat pentru aplicarea produsului; dispenserele trebuie să fie întreţinute în bună stare de igienă şi funcţionare.
3. Procedeul de spălare a mâinilor se efectuează conform informaţiilor furnizate de producător pe eticheta produsului; produsul trebuie să fie recomandat pentru uz sanitar şi trebuie să fie testat conform standardului EN 1499, care trebuie să conţină indicaţii despre:
a) necesitatea umectării prealabile a mâinilor;
b) volumul de produs utilizat;
c) timpul de spălare;
d) frecvenţa aplicării produsului;
e) instrucţiunile speciale pentru utilizarea apei.
4. Procedeul de frecare a mâinilor se efectuează conform informaţiilor furnizate de producător pe eticheta produsului; produsul trebuie să fie recomandat pentru uz sanitar şi trebuie să fie testat conform standardului EN 1500, care trebuie să conţină indicaţii despre:
a) volumul de produs utilizat;
b) timpul de frecare;
c) frecvenţa aplicării produsului.
5. Dezinfecţia chirurgicală a mâinilor prin spălare sau prin frecare este procedura care se realizează numai după dezinfecţia igienică a mâinilor, utilizându-se un produs antiseptic.
6. Antisepticul se aplică după cum urmează:
a) pentru suprafeţele cutanate sărace în glande sebacee:
1.înainte de efectuarea injecţiilor şi puncţiilor venoase, cu un timp de acţiune de 15 secunde;
2.înainte de efectuarea puncţiilor articulaţiei, cavităţilor corpului şi organelor cavitare, precum şi a micilor intervenţii chirurgicale, cu un timp de acţiune de minimum un minut;
b) pentru suprafeţele cutanate bogate în glande sebacee:
1.înaintea tuturor intervenţiilor chirurgicale se aplică de mai multe ori pe zona care urmează a fi incizată, menţinându-se umiditatea acesteia, cu un timp de acţiune de minimum 10 minute.
Antisepticul poate fi aplicat folosindu-se pulverizarea sau procedura de ştergere; dacă se foloseşte procedura de dezinfecţie prin ştergere, materialele trebuie să îndeplinească cerinţele pentru proceduri antiseptice pentru a putea fi folosite.

Art. 33

Procedurile recomandate, în funcţie de nivelul de risc, se efectuează conform tabelului:

Nivelul de risc	Proceduri	Indicaţii
Minim	- spălarea mâinilor sau - dezinfecţia igienică a mâinilor prin frecare	- când mâinile sunt vizibil murdare - la începutul şi la sfârşitul programului de lucru - înainte şi după scoaterea mănuşilor (sterile sau nesterile) - înainte şi după activităţile de curăţare - înainte şi după contactul cu pacienţii - după utilizarea grupului sanitar (WC)
Intermediar	- dezinfecţia igienică a mâinilor prin	- după contactul cu un pacient izolat septic

	frecare sau - dezinfecţia igienică a mâinilor prin spălare	- înainte de realizarea unei proceduri invazive - după orice contact accidental cu sângele sau cu alte lichide biologice - după contactul cu un pacient infectat şi/sau cu mediul în care stă - după toate manevrele potenţial contaminante - înainte de contactul cu un pacient izolat profilactic - înaintea realizării unei puncţii lombare, abdominale, articulare sau similare - înaintea manipulării dispozitivelor intravasculare, tuburilor de dren pleurale sau similare - în cazul manevrelor contaminante efectuate succesiv la acelaşi pacient - înainte şi după îngrijirea plăgilor
Înalt	- dezinfecţia chirurgicală a mâinilor prin frecare sau - dezinfecţia chirurgicală a mâinilor prin spălare	- înainte de toate intervenţiile chirurgicale, obstetricale - înaintea tuturor manevrelor care necesită o asepsie de tip chirurgical: montarea cateterelor centrale, puncţii amniotice, rahidiene şi alte situaţii similare

Art. 34

Pentru realizarea unei dezinfecţii eficiente se iau în considerare următorii factori care influenţează dezinfecţia:

a) spectrul de activitate şi puterea germicidă (tipul de microorganism, rezistenţa microorganismelor);

b) natura microorganismelor pe suportul tratat;

c) prezenţa de material organic pe echipamentul/suportul care urmează să fie tratat;

d) natura suportului care urmează să fie tratat;

e) concentraţia substanţei dezinfectante;

f) timpul de contact şi temperatura;

g) susceptibilitatea dezinfectanţilor chimici de a fi inactivaţi de diferite substanţe, aşa cum este prevăzut în autorizaţia/înregistrarea produsului;

h) tipul de activitate antimicrobiană (bacterii, virusuri, fungi) din care rezultă eficacitatea produsului;

i) efectul pH-ului;

j) stabilitatea produsului ca atare sau a soluţiilor de lucru.

Art. 35

Criteriile de alegere corectă a dezinfectantelor sunt următoarele:

a) spectrul de activitate adaptat obiectivelor fixate;

b) timpul de acţiune;

c) în funcţie de secţie, acestea trebuie să aibă eficienţă şi în prezenţa substanţelor interferenţe: sânge, puroi, vomă, diaree, apă dură, materii organice;

d) să aibă remanentă cât mai mare pe suprafeţe;

e) să fie compatibile cu materialele pe care se vor utiliza;

f) gradul de periculozitate (foarte toxic, toxic, nociv, coroziv, iritant, oxidant, foarte inflamabil şi inflamabil) pentru personal şi pacienţi;

g) să fie uşor de utilizat;

h) să fie stabile în timp;

i) să fie biodegradabile în acord cu cerinţele de mediu.

Art. 36

Criteriile de utilizare şi păstrare corectă a produselor dezinfectante:

a) un produs dezinfectant se utilizează numai în scopul indicat prin autorizaţie/înregistrare;

b) se respectă întocmai indicaţiile de utilizare de pe eticheta produsului;

c) se respectă întocmai concentraţia şi timpul de contact indicate în autorizaţie/înregistrare;

d) se ţine cont de incompatibilităţile produsului;

e) niciodată nu se amestecă produse diferite;

f) în general, produsele dezinfectante nu se utilizează ca atare, necesită diluţii; este de preferat ca soluţia respectivă să se facă în cantitatea strict necesară şi să se utilizeze imediat, dar nu mai mult de 48 de ore de la preparare; dacă nu este deja făcută, soluţia de lucru ar trebui să fie proaspăt preparată;

g) soluţiile se prepară utilizându-se un sistem de dozare gradat;

h) se notează pe flacon data preparării soluţiilor respective;

i) se respectă durata de utilizare a soluţiilor; în funcţie de produs, aceasta poate varia de la câteva ore la câteva săptămâni;

j) în cazul în care eticheta produsului s-a pierdut, produsul respectiv nu se mai foloseşte;
k) întotdeauna manipularea se face purtându-se echipament de protecţie;
l) se păstrează numai în flacoanele originale, pentru a se evita contaminarea lor şi pentru a nu se pierde informaţiile de pe eticheta produsului;
m) flacoanele trebuie păstrate la adăpost de lumină şi departe de surse de căldură.

SECŢIUNEA C: Reguli generale de practică a dezinfecţiei şi a dezinfectantelor

Art. 37

(1) Dezinfecţia profilactică completează curăţarea, dar nu o suplineşte şi nu poate înlocui sterilizarea.
(2) Eficienţa dezinfecţiei profilactice este condiţionată de o riguroasă curăţare prealabilă.
(3) Pentru dezinfecţia în focar se utilizează dezinfectante cu acţiune asupra agentului patogen incriminat sau presupus; dezinfecţia se practică înainte de instituirea măsurilor de curăţare.
(4) Dezinfectantele trebuie folosite la concentraţiile şi timpii de acţiune specificaţi în autorizaţie/înregistrare.
(5) Se recomandă utilizarea de cuve cu capac şi grătar, pentru dezinfecţia instrumentarului.
(6) La prepararea şi utilizarea soluţiilor dezinfectante sunt necesare:
a) cunoaşterea exactă a concentraţiei de lucru în funcţie de suportul supus dezinfecţiei;
b) folosirea de recipiente curate;
c) utilizarea soluţiilor de lucru în cadrul perioadei de stabilitate şi eficacitate, conform unei corecte practici medicale, pentru a se evita contaminarea şi degradarea sau inactivarea lor;
d) controlul chimic şi bacteriologic, prin sondaj al produselor şi soluţiilor dezinfectante în curs de utilizare.
(7) Utilizarea dezinfectantelor se face respectându-se normele de protecţie a muncii, care să prevină accidentele şi intoxicaţiile.
(8) Personalul care utilizează în mod curent dezinfectantele trebuie instruit cu privire la noile proceduri sau la noile produse dezinfectante.
(9) În fiecare încăpere în care se efectuează operaţiuni de curăţare şi dezinfecţie trebuie să existe în mod obligatoriu un grafic zilnic orar, în care personalul responsabil va înregistra tipul operaţiunii, ora de efectuare şi semnătura; aceste persoane trebuie să cunoască în orice moment denumirea dezinfectantului utilizat, data preparării soluţiei de lucru şi timpul de acţiune, precum şi concentraţia de lucru.

Art. 38

Procesarea suporturilor suprafeţelor, instrumentarului şi echipamentelor medicale înainte sau după utilizare trebuie să fie corectă, pentru a preveni infecţiile nosocomiale.

Art. 39

Alegerea metodei de dezinfecţie şi/sau sterilizare pentru suprafeţe, instrumentar şi echipamente trebuie să ţină cont de categoria din care acestea fac parte şi de modul în care sunt folosite în asistenţa acordată pacienţilor. Pentru dispozitivele medicale invazive este necesară eficacitatea împotriva mycobacteriei atipice (eficacitate mycobactericidă), procesul trebuind să fie eficace împotriva M. terrae şi M. avium.

Art. 40

Suprafeţele, instrumentarul şi echipamentele sunt clasificate după cum urmează:
a) critice - cele care vin în contact cu sau penetrează ţesuturile corpului uman, inclusiv sistemul vascular, în mod normal sterile. În această categorie intră: instrumentarul chirurgical, inclusiv instrumentarul stomatologic, materialul utilizat pentru suturi, trusele pentru asistenţă la naştere, echipamentul personalului din sălile de operaţii, câmpuri operatorii, meşele şi tampoanele, tuburile de dren, implanturile, acele şi seringile, cateterele cardiace şi urinare, dispozitivele pentru hemodializă, toate dispozitivele intravasculare, endoscoapele invazive flexibile sau rigide, echipamentul pentru biopsie asociat endoscoapelor, acele pentru acupunctura, acele utilizate în neurologie;
b) semicritice - care vin în contact cu mucoasele intacte, cu excepţia mucoasei periodontale, sau cu pielea având soluţii de continuitate. În această categorie intră: suprafaţa interioară a incubatoarelor pentru copii şi dispozitivele ataşate acestora (masca oxigen, umidificator), endoscoapele flexibile şi rigide neinvazive, folosite exclusiv ca dispozitive pentru imagistică, laringoscoapele, tuburile endotraheale, echipamentul de anestezie şi respiraţie asistată, diafragmele, termometrele de sticlă, termometrele electronice, ventuzele, vârfurile de la seringile auriculare, specul nazal, specul vaginal, abaiselang-urile, instrumentele utilizate pentru montarea dispozitivelor anticoncepţionale, accesoriile pompiţelor de lapte.
Suprafeţele inerte din secţii şi laboratoare, stropite cu sânge, fecale sau cu alte secreţii şi/sau excreţii potenţial patogene, şi căzile de hidroterapie utilizate pentru pacienţii a căror piele prezintă soluţii de continuitate sunt considerate semicritice;
c) noncritice - care nu vin frecvent în contact cu pacientul sau care vin în contact numai cu pielea intactă a acestuia. În această categorie intră: stetoscoape, ploşti, urinare, manşeta de la tensiometru, specul

auricular, suprafeţele hemodializoarelor care vin în contact cu dializatul, cadrele pentru invalizi, suprafeţele dispozitivelor medicale care sunt atinse şi de personalul medical în timpul procedurii, orice alte tipuri de suporturi.

Suprafeţele inerte, cum sunt pavimentele, pereţii, mobilierul de spital, obiectele sanitare ş.a., se încadrează în categoria noncritice.

Art. 41

Metodele de aplicare a dezinfectantelor chimice în funcţie de suportul care urmează să fie tratat sunt:

Suportul de tratat	Metoda de aplicare	Observaţii
1	2	3
Suprafeţe Folosirea dezinfectantelor pentru suprafeţe, cu respectarea concentraţiilor de utilizare şi a timpului de contact, conform recomandărilor		
Pavimente (mozaic, ciment, linoleum, lemn etc.)	Ştergere	Curăţare riguroasă, apoi dezinfecţie (ce poate fi de nivel scăzut, mediu sau înalt ca în cazul prezenţei produselor biologice)
Pereţi (faianţă, tapet lavabil, uleiaţi etc.), uşi, ferestre (tocărie)	- Ştergere - Pulverizare*)	Se insistă asupra curăţării părţilor superioare ale pervazurilor şi a altor suprafeţe orizontale, precum şi ale colţurilor, urmată de dezinfecţie (ce poate fi de nivel scăzut, mediu sau înalt ca, de exemplu, în cazul prezentei produselor biologice)
Mobilier, inclusiv paturi şi noptiere (din lemn, metal, plastic)	- Ştergere - Pulverizare*)	Curăţare riguroasă şi dezinfecţie de nivel scăzut sau mediu a suprafeţelor orizontale (partea superioară a dulapurilor, a rafturilor etc.)
Mese de operaţie, mese instrumentar, suprafeţe pentru pregătirea tratamentului, suprafeţe pentru depozitarea temporară a produselor patologice recoltate, lămpi scialitice, mese de înfăşat, mese de lucru în laborator (pot intra şi în categoria semicritice)	- Ştergere - Pulverizare*)	- Curăţare riguroasă şi dezinfecţia suprafeţelor orizontale - Dezinfecţie de nivel înalt, curăţare, dezinfecţie de nivel înalt ca, de exemplu, în cazul produselor biologice provenite de la pacienţi
Muşamale din cauciuc sau plastic, colac din cauciuc etc.	- Ştergere - Imersie	Dezinfecţie de nivel mediu, apoi curăţare
Cărucioare, tărgi	Ştergere	- Curăţare, dezinfecţie de nivel mediu sau înalt - În funcţie de prezenţa produselor biologice de la pacienţi, întâi se realizează dezinfecţia de nivel înalt, apoi se curăţă
Obiecte sanitare, recipiente de colectare, materiale de curăţare Folosirea dezinfectantelor pentru suprafeţe, cu respectarea concentraţiilor de utilizare şi a timpului de contact, conform recomandărilor		
Băi, băiţe pentru copii, chiuvete, bazine de spălare	Ştergere	Curăţare, dezinfecţie de nivel mediu sau înalt
Ploşti, oliţe, urinare	- Imersie - Maşini automate	- După golire se foloseşte 1 vol. soluţie dezinfectant nivel mediu pentru 1 vol. recipient, curăţare, apoi dezinfecţie de nivel înalt - Se păstrează uscate în locuri special destinate
Grupuri sanitare (WC, bazine, scaune WC, pisoare), grătare din lemn sau plastic pentru băi şi duşuri	Ştergere	Curăţare, dezinfecţie de nivel mediu
Sifoane de pardoseală, sifoane de scurgere	Se toarnă un produs dezinfectant de nivel scăzut	
Găleţi pentru curăţare, ustensile pentru curăţare (perii, mop, teu, lavete, cârpe etc.)	Spălare	- Curăţare - În cazul în care se folosesc la materii organice, întâi dezinfecţie de nivel mediu sau scăzut, apoi curăţare
Recipiente pentru colectarea deşeurilor menajere, pubele	Spălare	Curăţare, dezinfecţie de nivel scăzut
Lenjerie şi echipament de protecţie Folosirea dezinfectantelor pentru lenjerie, cu respectarea concentraţiilor de utilizare şi a timpului de contact, conform recomandărilor		
Lenjerie contaminată (murdărită cu excremente, produse patologice şi lenjerie care provine de la bolnavi contagioşi)	Înmuiere în 4 litri de soluţie la 1 kg de lenjerie	Se pot folosi maşini de spălat automate cu program de dezinfecţie inclus; necesită predezinfecţie iniţială şi dezinfecţie finală.
Alte categorii		Spălare la maşini automate cu ciclu termic de dezinfecţie sau fierbere

Echipament de protecţie şi de lucru din material textil	Înmuiere	Se dezinfectează numai cel contaminat.
Şorţuri impermeabile din cauciuc şi plastic	Ştergere	Curăţare urmată de dezinfecţie de nivel mediu sau înalt
Zone de preparare şi distribuire alimente Folosirea dezinfectantelor recomandate pentru uz în bucătării, oficii alimentare, dezinfecţia veselei, recipientelor, tacâmurilor, ustensilelor, cu respectarea concentraţiilor de utilizare şi a timpului de contact, conform recomandărilor		
Veselă, tacâmuri, alte ustensile de consum, echipamente	Imersie sau ştergere	Curăţare, dezinfecţie, clătire Pentru dezinfecţie se utilizează un produs biocid care se încadrează în tipul de produs 4.
Suprafeţe (pavimente, pereţi, mese)	- Ştergere - Pulverizare*)	Curăţare, dezinfecţie, clătire Pentru dezinfecţie se utilizează un produs biocid care se încadrează în tipul de produs 2.
Instrumentar, echipamente Folosirea dezinfectantelor pentru instrumentar, cu respectarea concentraţiilor de utilizare şi a timpului de contact, conform recomandărilor. Nu se utilizează detergenţii casnici, anionici pentru curăţarea instrumentarului, echipamentelor. La curăţare se utilizează numai detergenţi special destinaţi, inclusiv detergenţi enzimatici urmaţi de dezinfectanţi de nivel înalt. Dacă se utilizează dezinfectanţi de nivel înalt cu efect de curăţare nu se mai folosesc detergenţii enzimatici, curăţarea şi dezinfecţia având loc simultan şi complet.		
Procesarea suporturilor (instrumentar, echipamente) critice	Imersie	- Dezinfecţie cel puţin de nivel mediu şi curăţare, urmată de sterilizare prin căldură - Dezinfecţie cel puţin de nivel mediu, curăţare, urmată de sterilizare chimică (pentru instrumentarul care nu suportă sterilizarea prin căldură)
Procesarea suporturilor (suprafeţe, instrumentar, echipamente) semicritice	- Imersie - Ştergere pentru suprafeţe	Dezinfecţie de nivel mediu, curăţare sau dezinfecţie de nivel mediu, urmată de sterilizare chimică (pentru instrumentarul care nu suportă sterilizarea prin căldură)
Termometre (orale, rectale)	- Imersie - Ştergere	- Dezinfecţie de nivel mediu, curăţare - Soluţii dezinfectante preparate zilnic - A nu se amesteca în timpul procesării termometrele orale cu cele rectale
Incubatoare, izolete, măşti de oxigen	Ştergere	- Curăţare urmată de dezinfecţie de nivel înalt
Cazarmament Folosirea dezinfectantelor special destinate, de nivel mediu, iar pentru obiectele care provin de la bolnavii contagioşi (BK), în spaţii special amenajate, a dezinfectantelor de nivel înalt, în absenţa pacienţilor		
Saltele, huse pentru saltele, perne, paturi, halate din molton, îmbrăcăminte	Pulverizare*)	În spaţii etanşeizate şi în funcţie de: - temperatură - umiditate relativă - timpul de expunere
	Vaporizare	Cameră specială
	Vaporizare	În saloane şi alte spaţii de cazare şi în funcţie de: - temperatură - umiditate relativă - timpul de expunere Doar în cazuri speciale (eliminatori de BK)
Spaţii închise Folosirea dezinfectantelor special destinate dezinfecţiei aerului, de nivel înalt, lipsite de toxicitate; se interzice utilizarea aldehidelor de orice natură.		
Săli de operaţie, săli de naştere, saloane, cabinete	Pulverizare*)	În spaţii etanşe şi în funcţie de: - temperatură - umiditate relativă - timpul de expunere
	Vaporizare/Aerosolizare	Aparatura electronică şi de respiraţie este protejată sau scoasă din spaţiul în care se face dezinfecţia.
Diverse Folosirea dezinfectantelor pentru suprafeţe, cu respectarea concentraţiilor de utilizare şi a timpului de contact, conform recomandărilor producătorului		
Jucării din plastic, cauciuc sau lemn Jucării din material textil	- Spălare - Ştergere - Pulverizare*)	Curăţare şi dezinfecţie de nivel înalt sau mediu Atenţie clătire
Telefoane	Ştergere	Curăţare şi dezinfecţie de nivel scăzut, mediu
Ambulanţe, mijloace auto	- Pulverizare*) - Ştergere	Curăţare şi dezinfecţie de nivel mediu sau înalt
*) În cazul în care dezinfectantul se aplică prin pulverizare se va utiliza cantitatea specificată în		

autorizaţie/înregistrare pentru a fi utilizată pentru un m^2 sau un m^3 la timpii recomandaţi.

Art. 42

Dezinfecţia curentă şi/sau terminală, efectuată numai cu dezinfectanţi de nivel înalt, este obligatorie în:

a) secţiile de spitalizare a cazurilor de boli transmisibile;

b) situaţia evoluţiei unor focare de infecţii nosocomiale;

c) situaţiile de risc epidemiologie (evidenţierea cu ajutorul laboratorului a circulaţiei microorganismelor patonege);

d) secţiile cu risc înalt: secţii unde sunt asistaţi pacienţi imunodeprimaţi, arşi, neonatologie, prematuri, secţii unde se practică grefe/transplant (de măduvă, cardiace, renale etc.), secţii de oncologie şi onco-hematologie;

e) blocul operator, blocul de naşteri;

f) secţiile de reanimare, terapie intensivă;

g) serviciile de urgenţă, ambulanţă, locul unde se triază lenjeria;

h) orice altă situaţie de risc epidemiologie identificată.

CAPITOLUL IV: Sterilizarea

Art. 43

Sterilizarea face parte din categoria procedurilor speciale, ale cărei rezultate nu pot fi verificate integral prin controlul final al produsului, trebuind să fie supusă validării, supravegherii bunei funcţionări, precum şi asigurării unei păstrări corespunzătoare a materialelor sterilizate.

Art. 44

Sunt obligatorii controlul permanent al operaţiunilor, respectarea permanentă a procedurilor stabilite, precum şi asigurarea conformităţii produselor la exigenţele specificate în standardul EN ISO 9001/2000 menţionat în anexa nr. 2.

Art. 45

Obţinerea stării de sterilitate, precum şi menţinerea ei până la momentul utilizării reprezintă o obligaţie permanentă a unităţilor sanitare.

Art. 46

Unităţile sanitare trebuie să garanteze acelaşi nivel de securitate a pacienţilor, atât în cazul utilizării de dispozitive medicale achiziţionate de pe piaţă, cât şi al utilizării celor sterilizate în unitatea sanitară.

Art. 47

Este interzisă reprocesarea în vederea reutilizării a dispozitivelor şi materialelor de unică folosinţă.

Art. 48

Toate dispozitivele medicale şi materialele care urmează a fi sterilizate trebuie dezinfectate, curăţate şi dezinfectate, înainte de a fi supuse unui proces de sterilizare standardizat.

Art. 49

Organizarea activităţilor propriu-zise de sterilizare, precum şi a activităţilor conexe, respectiv curăţarea, dezinfecţia şi împachetarea, stocarea şi livrarea, va ţine cont de necesitatea respectării circuitelor, a evitării golurilor de control pe parcursul realizării lor şi a utilizării altor spaţii decât cele anume desemnate.

Art. 50

Serviciul de sterilizare din unităţile sanitare de orice tip trebuie să fie amenajat într-un spaţiu special destinat, în vederea desfăşurării activităţilor din etapele menţionate.

Art. 51

Organizarea activităţii serviciilor de sterilizare cuprinde:

a) circuitul de colectare, recipientele şi mijloacele de transport pentru dispozitivele murdare, nesterile;

b) asigurarea ariei de curăţare în vederea diminuării încărcăturii microbiene şi eliminării încărcăturii organice şi a biofilmului de pe dispozitivele medicale;

c) verificarea stării de funcţionare a aparaturii;

d) spaţiul curat pentru inventarierea şi împachetarea dispozitivelor medicale;

e) sterilizarea propriu-zisă şi sistemul de control al procesului;

f) procedurile de control şi marcare a produselor finite;

g) tratarea neconformităţilor;

h) înregistrarea şi arhivarea datelor privind parcursul procesului, în vederea asigurării trasabilităţii (ISO 8402), care este un element de sistem de calitate şi este parte componentă a materiovigilenţei;

i) circuitul de stocare, distribuţie, transport la utilizatori;
j) instruirea personalului;
k) echipamentul de protecţie al personalului.

Art. 52

Circuitele se stabilesc astfel încât să asigure securitatea personalului, a mediului şi integritatea dispozitivelor medicale.

Art. 53

Se efectuează controlul mediului, conform metodologiei prevăzute de Farmacopeea Română, în vederea:
a) evaluării problemelor existente;
b) remedierii defecţiunilor;
c) supravegherii şi corectării condiţiilor de desfăşurare a procesului de sterilizare şi a activităţilor conexe.

Art. 54

În vederea controlului mediului se monitorizează şi se controlează:
a) calitatea aerului, apei şi a fluidelor utilizate;
b) starea de igienă a suprafeţelor;
c) modul de funcţionare a echipamentelor de sterilizare;
d) modul de funcţionare a echipamentelor de control, măsură şi testare;
e) ţinuta şi formarea profesională ale personalului.

Art. 55

În unităţile de asistenţă medicală, sterilizarea se realizează prin metode fizice, abur sub presiune sau abur la temperatură şi presiune ridicate/scăzute, căldură uscată, precum şi prin metode combinate fizico-chimice.

Art. 56

(1) Dispozitivele medicale care nu suportă sterilizare la temperatură se sterilizează chimic numai cu produse autorizate/înregistrate. În vederea unei bune practici medicale şi eliminării oricărui risc în domeniul sanitar, orice utilizator este obligat să ţină evidenţa tuturor procedurilor de sterilizare chimică în Registrul de sterilizare chimică. Se vor completa obligatoriu:
a) produsul utilizat şi concentraţia de lucru;
b) data şi ora preparării soluţiei de lucru;
c) ora începerii fiecărei proceduri (ciclu) de sterilizare;
d) lista dispozitivelor medicale sterilizate la fiecare procedură;
e) ora terminării fiecărei proceduri (ciclu) de sterilizare;
f) numele şi semnătura persoanei care a efectuat procedura.
(2) Acest registru va fi pus la dispoziţia organelor de control sanitar şi poate constitui, după caz, probă medico-legală.

Art. 57

Sterilizarea cu vapori de apă saturaţi sub presiune trebuie să fie metoda de elecţie, dacă dispozitivul medical suportă această procedură.

Art. 58

Sterilizarea se realizează numai cu aparate de sterilizare autorizate şi avizate conform prevederilor legale în vigoare.

Art. 59

Presiunea, temperatura şi timpul de sterilizare reprezintă valori de siguranţă pentru eficacitatea sterilizării în funcţie de aparat.

Art. 60

Trebuie respectate instrucţiunile de utilizare din cartea tehnică a aparatului cu privire la temperatura, presiunea şi timpul de sterilizare recomandate de producător, în funcţie de tipurile de materiale de sterilizat ambalate.

Art. 61

Personalul medical responsabil cu respectarea calităţii procedurilor de sterilizare va fi instruit şi calificat pentru fiecare tip de aparat de sterilizat şi va face dovada de certificare a acestui lucru.

Art. 62

Instrucţiunile de utilizare pentru fiecare sterilizator se vor afişa la loc vizibil.

Art. 63

La verificarea calităţii sterilizării la sterilizatorul cu abur sub presiune, care are sistem de înregistrare automată a ciclului de sterilizare diagramă, se efectuează analiza acesteia:

a) prin compararea cu diagrama-tip furnizată de producător;

b) prin analiza diagramei, urmărind presiunea şi temperatura atinse, înregistrate pentru fiecare fază a ciclului, în funcţie de programul ales.

Art. 64

La verificarea calităţii sterilizării la sterilizatorul cu abur sub presiune care nu are sistem de înregistrare automată a ciclului de sterilizare, pe tot parcursul ciclului complet de sterilizare se urmăreşte pe panoul de comandă şi se notează temperatura şi presiunea atinse pentru fiecare fază a ciclului. În această situaţie este obligatorie utilizarea indicatorilor biologici (bacteriologici).

Art. 65

Se verifică vizual integritatea pachetelor ambalate în hârtie specială sau pungi hârtie plastic, după care se închide imediat colierul casoletelor.

Art. 66

Se verifică obligatoriu indicatorii fizico-chimici de eficientă ai sterilizării:

a) virarea culorii benzilor adezive cu indicator fizico-chimic de lipit pe cutii, casolete, pachetele ambalate în hârtie specială sau imprimate pe punga hârtie plastic;

b) virarea culorii la indicatorii "integratori" plasaţi în interiorul fiecărui pachet sau într-un pacheţel-test în fiecare coş, verificându-se temperatura, timpul şi saturaţia vaporilor.

Art. 67

Pentru materialele ambalate în pungi hârtie plastic, verificarea se poate face prin transparenţa plasticului. Pentru materialele ambalate în cutii metalice, verificarea se face prin verificarea pacheţelului-test ataşat la fiecare coş.

Art. 68

Materialul se consideră nesterilizat şi nu se utilizează când virarea culorii indicatorilor nu s-a realizat.

Art. 69

Este obligatoriu controlul umidităţii textilelor.

Art. 70

(1) Pentru sterilizarea textilelor la autoclavă, se utilizează o casoletă-test care se plasează între celelalte casolete în mijlocul încărcăturii. Casoleta-test se pregăteşte în funcţie de dimensiunea acesteia, realizându-se o încărcătură cu textile, şi se plasează teste de tifon împăturit, cu o greutate de circa 20 g, în casoletă, în poziţiile: sub capac, la mijloc şi la fund, pe axul casoletei. Testele se cântăresc la balanţa electronică, înainte de a fi puse în casolete şi după scoaterea de la sterilizare din autoclavă. Diferenţa de greutate exprimată în procent reprezintă creşterea umidităţii textilelor în cele 3 puncte investigate.

(2) Pentru aparatele la care uscarea se realizează în condiţii bune, testele, indiferent de poziţia lor în casoletă, indică valori sub 5% (pentru autoclavele româneşti) sau 1% (pentru noile tipuri de autoclave). În caz că această normă de umiditate este depăşită, este obligatorie verificarea funcţionării autoclavei.

Art. 71

Filtrul de la supapa de admisie a aerului atmosferic se schimbă conform recomandărilor producătorului aparatului. Sunt de preferat filtrele de unică utilizare. Eficienţa filtrului trebuie să fie de 99,998% pentru particule de ordinul de mărime 0,3 micro (0,0003 mm).

Art. 72

Este interzisă funcţionarea autoclavelor fără filtru sau cu filtru carbonizat.

Art. 73

Cutiile, casoletele, coşurile, navetele cu pachetele sterilizate se etichetează notându-se data, ora, sterilizatorul cu abur sub presiune la care s-a efectuat sterilizarea, persoana care a efectuat sterilizarea.

Art. 74

În registrul de evidenţă a sterilizării se notează: data şi numărul autoclavei, atunci când sunt mai multe, conţinutul pachetelor din şarjă şi numărul lor, numărul şarjei, temperatura şi presiunea la care s-a efectuat sterilizarea, ora de începere şi de încheiere a ciclului (durata), rezultatele indicatorilor fizico-chimici, semnătura persoanei responsabile cu sterilizarea şi care eliberează materialul steril; se ataşează diagrama ciclului de sterilizare (acolo unde se efectuează înregistrarea automată), rezultatul testelor biologice, observaţii, data la care s-au efectuat întreţinerea şi verificarea aparatului.

Art. 75

Verificarea calităţii penetrării aburului se realizează zilnic, înainte de efectuarea primei sterilizări, cu ajutorul

testului Bowie & Dick pentru verificarea calităţii penetrării aburului.

Art. 76

(1) Se utilizează un pachet-test compus din prosoape de bumbac de 30/30 cm, care se pun unul peste altul realizând o înălţime de 27,5 cm; în mijlocul acestora se plasează hârtia-test Bowie & Dick de aceeaşi dimensiune cu prosopul (care are imprimat un model geometric). Se ambalează etanş într-un câmp operator, se închide cu bandă adezivă cu indicator chimic de virare a culorii. Pachetul-test astfel confecţionat se plasează singur în mijlocul incintei autoclavei.

(2) Se realizează un ciclu de sterilizare complet (cu pre-şi postvacuumare) la temperatura de 134°C, timp de 3,5 minute.

(3) La sfârşitul ciclului complet de sterilizare se extrage din pachet testul şi se interpretează rezultatul. Dacă ciclul a fost eficient (absenţa aerului rezidual sau a pungilor de aer), schimbarea culorii modelului geometric imprimat este uniformă. Dacă penetrarea aburului nu a fost uniformă, au existat pungi de aer, culoarea benzilor este neuniformă (apar pete mai clare). În această situaţie, sterilizarea nu a fost eficientă, sterilizatorul nu trebuie utilizat şi se apelează la tehnician pentru verificare.

Art. 77

Testul Bowie & Dick trebuie utilizat:

a) zilnic, dacă la autoclavă se sterilizează textile;

b) cel puţin o dată pe săptămână, la autoclavele care sterilizează instrumentar;

c) după fiecare reparaţie a autoclavei.

Art. 78

În vederea controlului eficacităţii sterilizării sunt admişi următorii indicatori biologici:

1. Indicatori biologici cu Bacillus stearothermophyllus impregnaţi pe suporţi de bumbac sub formă de peticele sau fire de aţă în concentraţii de 10^{-6} UFC.

Aceştia se pun în interiorul unei cutii-test. Cutia-test se introduce în autoclavă odată cu materialul de sterilizat şi se realizează ciclul complet de sterilizare. La sfârşitul ciclului, indicatorul biologic este trimis la laborator, unde este extras, însămânţat şi incubat; citirea se face la 7 zile.

2. Indicatori biologici cu Bacillus stearothermophyllus impregnaţi pe suport şi condiţionat împreună cu mediul de cultură înfiolat.

La sfârşitul ciclului se sparge fiola prin presiune asupra tubului exterior şi se incubează. Citirea se face la 24 sau 48 de ore.

Se recomandă citirea cu atenţie a prospectului şi respectarea recomandărilor producătorului.

3. Controlul bacteriologic al sterilizării la autoclavă cu suspensie de spori de Bacillus stearothermophyllus în soluţie nutritivă, cu indicator de pH

Mod de utilizare:

a) fiolele-test se introduc în autoclavă la diferite niveluri printre dispozitivele medicale şi materialele supuse sterilizării la 120°C. Se efectuează sterilizarea la parametrii indicaţi de către producător (de exemplu, 120° C, timp de 30 de minute);

b) după sterilizare, fiolele sunt aşezate într-un incubator de 56°C;

c) citirea rezultatelor:

- menţinerea aspectului (culoare, transparenţă) nemodificat arată o sterilizare corectă;
- virajul la galben al indicatorului de pH şi o uşoară opalescenţă a conţinutului indică o sterilizare sub parametrii de eficienţă optimă (au rămas spori viabili, s-au cultivat şi au modificat aspectul produsului).

Acest test nu este indicat pentru controlul sterilizării la autoclavă la temperaturi mai mari de 120°C.

Modificarea culorii violet a produsului la nuanţe de violet roşcat până la galben, chiar la scoaterea fiolelor din autoclavă, indică depăşirea temperaturii de 120°C. Această modificare de culoare se datorează degradării chimice a substratului din cauza temperaturii ridicate. Asemenea fiole nu mai este necesar să fie incubate, deoarece sporii din fiolă au fost distruşi.

Art. 79

(1) Durata menţinerii sterilităţii materialelor ambalate în cutii metalice perforate sau în casolete cu colier este de 24 de ore de la sterilizare, cu condiţia menţinerii cutiilor şi casoletelor închise.

(2) Durata menţinerii sterilităţii materialelor ambalate în pungi hârtie plastic sudate este de două luni de la sterilizare, cu condiţia menţinerii integrităţii ambalajului.

(3) Durata menţinerii sterilităţii materialelor ambalate în hârtie specială (ambalaj în două straturi de hârtie, fără soluţii de continuitate) este de o lună de la sterilizare.

Art. 80

Evaluarea eficacităţii sterilizării se face:

1. Pentru fiecare ciclu:

a) pe tot parcursul ciclului complet de sterilizare se urmăreşte pe panoul de comandă şi se notează temperatura şi presiunea atinse pentru fiecare fază a ciclului sau se analizează diagrama;

b) se citeşte virarea culorii indicatorului pentru temperatură de pe banda adezivă; se citeşte virarea culorii indicatorului "integrator" pentru sterilizatorul cu abur sub presiune, care controlează timpul, temperatura şi saturaţia vaporilor;

2. Zilnic:

a) se controlează calitatea penetrării aburului cu ajutorul testului Bowie & Dick;

b) controlul cu indicator biologic (Bacillus stearothermophyllus) pentru autoclavele din staţiile centrale de sterilizare sau pentru autoclavele care nu sunt echipate cu dispozitiv automat de înregistrare (diagrama).

Art. 81

Întreţinerea (mentenanţa) autoclavelor se efectuează de un tehnician autorizat pentru verificarea funcţionării acestora, cu periodicitatea recomandată de producătorul aparatului, dar cel puţin o dată pe trimestru.

Art. 82

Orice defecţiune apărută la autoclavă necesită intervenţia tehnicianului autorizat.

Art. 83

După intervenţia pe aparat se efectuează:

a) verificarea parametrilor aparatului, urmărind înregistrările de temperatură şi presiune (pe panoul frontal sau diagramă);

b) testul Bowie & Dick pentru verificarea calităţii penetrării aburului;

c) controlul umidităţii textilelor.

Art. 84

Amplasarea, dotarea, exploatarea, întreţinerea, verificarea şi repararea aparatelor, utilajelor şi instalaţiilor de sterilizare se fac conform prevederilor legale în vigoare.

Art. 85

Se utilizează numai aparate autorizate de Ministerul Sănătăţii Publice.

Art. 86

Se vor elabora şi afişa instrucţiuni tehnice specifice privind exploatarea aparatelor, precum şi măsurile ce trebuie luate în caz de avarii, întreruperi sau dereglări la fiecare loc de muncă.

Art. 87

Asistenta medicală responsabilă cu sterilizarea va fi instruită şi acreditată să lucreze cu vase sub presiune.

Art. 88

Sterilizarea apei pentru spălarea chirurgicală se efectuează în autoclavă pentru sterilizarea apei, potrivit instrucţiunilor de utilizare din cartea tehnică a acesteia, la o presiune de sterilizare de 1,5 bari şi un timp de sterilizare de 30 de minute, precum şi în diferite aparate, filtre sau alte dispozitive autorizate conform legii.

Art. 89

Reţeaua de alimentare şi distribuire a apei sterile de la autoclave la spălătoare trebuie să îndeplinească următoarele condiţii:

a) distanţa maximă de la autoclavă la punctul de distribuţie nu va depăşi 20 m;

b) sunt admise numai conducte fără mufe;

c) eliminarea oricărei posibilităţi de contaminare a apei sterile prin stagnarea în sistemul de distribuţie (cu interzicerea coturilor în "U" sub nivelul conductei);

d) apa sterilă pentru spălarea chirurgicală se prepară în ziua utilizării ei.

Art. 90

(1) Sterilizarea la sterilizatoare cu oxid de etilena se utilizează doar când nu există alt mijloc de sterilizare adecvat pentru obiecte şi echipamente termosensibile; această tehnică de sterilizare este delicată şi erorile de procedură pot duce fie la accidente prin sterilizare ineficientă, fie la accidente toxice la personal sau pacienţii la care se utilizează materialul sterilizat cu oxid de etilena.

(2) Sterilizarea cu oxid de etilena se efectuează numai în staţia centrală de sterilizare, special echipată şi deservită de personal calificat, instruit şi acreditat să lucreze cu sterilizatoare cu oxid de etilena.

(3) Este interzisă utilizarea sterilizării cu oxid de etilena pentru sterilizarea materialului medico-chirurgical în urgenţă.

(4) Este interzisă sterilizarea cu oxid de etilena a materialului medico-chirurgical a cărui compoziţie nu este cunoscută.

(5) Este interzisă resterilizarea cu oxid de etilena a echipamentului medical constituit din părţi de policlorură de vinil sterilizat iniţial cu radiaţii ionizante sau raze gamma.

(6) Este interzis a se fuma în încăperile unde se utilizează oxidul de etilena; aceste încăperi trebuie ventilate în permanenţă direct cu aer proaspăt (din exterior).

Art. 91

Ciclul complet de sterilizare cuprinde următoarele faze:

a) vacuumare iniţială;

b) preîncălzire;

c) îndepărtarea aerului cu umidificarea obiectelor;

d) sterilizare (expunere la gaz);

e) vacuumare finală;

f) purjare de aer şi ventilare;

g) aerare (desorbţie).

Art. 92

Parametrii programelor automate de sterilizare sunt:

a) temperatura de 37°C, presiune subatmosferică, timp de sterilizare 180 de minute; durata procesului 4-8 ore;

b) temperatura de 55°C, presiune subatmosferică, timp de sterilizare 60 de minute; durata procesului 2-5 ore.

Art. 93

Se admit şi alţi parametrii ai programelor automate de sterilizare specificaţi în cartea tehnică a aparatului.

Art. 94

Este obligatorie citirea cu atenţie a instrucţiunilor de utilizare şi a cărţii tehnice a aparatului pentru a folosi temperatura (presiunea) şi timpul de sterilizare recomandate de producător pentru materialele de sterilizat împachetate.

Art. 95

Verificarea eficienţei sterilizării se face respectând următoarele:

a) citirea şi interpretarea diagramelor înregistrate ale ciclului complet de sterilizare: temperatura, presiunea, presiunea negativă (vidul) şi durata;

b) verificarea indicatorilor fizico-chimici, martori ai trecerii prin procesul de sterilizare, special fabricaţi pentru sterilizarea cu oxid de etilena;

c) utilizarea pentru fiecare ciclu a testelor biologice (bacteriologice) cu spori de Bacillus subtillis.

Art. 96

În registrul de evidenţă a sterilizării se notează: numărul şarjei şi conţinutul pachetelor, data şi ora de debut şi sfârşit ale ciclului, temperatura la care s-a efectuat sterilizarea, rezultatele indicatorilor fizico-chimici şi biologici, numele şi semnătura persoanei responsabile cu sterilizarea, observaţii, data la care s-a efectuat întreţinerea şi verificarea aparatului. Data finală a desorbţiei va fi notată pe fiecare ambalaj.

Art. 97

Materialele sterilizate cu oxid de etilena se utilizează doar după ce conţinutul în gaz a scăzut sub 2 ppm (2 mg/kg), valoare fixată prin consens.

Art. 98

Pentru a respecta prevederea din art. 90 se utilizează un spaţiu ventilat, cu o temperatură de cel puţin 20°C, care nu este utilizat în alte scopuri şi în care este interzisă staţionarea personalului.

Art. 99

Perioada necesară desorbţiei este în funcţie de compoziţia materialelor sterilizate.

Art. 100

Pentru sterilizatoarele cu oxid de etilena care nu au inclusă în ciclul complet de sterilizare desorbţia la sfârşitul programului, timpul de desorbţie necesar pentru echipamente după extragerea din aparat este:

a) de 16 săptămâni, pentru materiale fabricate din poliamide;

b) de 6 săptămâni, pentru materiale fabricate din polietilenă, teflon, latex, silicon, acetat de etilenvinil, poliuretan, polipropilen, PVC plastifiat.

Art. 101

(1) Sterilizarea la sterilizatoare cu abur şi formaldehidă la temperaturi joase şi presiune subatmosferică este utilizată în staţia centrală de sterilizare a unităţilor sanitare pentru sterilizarea obiectelor, echipamentelor

sensibile la căldură, care pot fi deteriorate la temperaturile realizate în sterilizatoare cu abur convenţional; agentul de sterilizare este formaldehidă, utilizată în procesul care are loc la presiune subatmosferică.

(2) Sterilizarea cu abur şi formaldehidă la temperaturi joase şi presiune subatmosferică se efectuează numai în staţia centrală de sterilizare, special echipată şi deservită de personal calificat, instruit şi acreditat să lucreze cu astfel de aparate.

(3) Este interzisă utilizarea sterilizării cu abur şi formaldehidă la temperaturi joase şi presiune subatmosferică pentru sterilizarea materialului medico-chirurgical în urgenţă.

(4) Formaldehidă gaz într-un anumit amestec cu aerul este explozivă.

Art. 102

Ciclul complet de sterilizare cuprinde următoarele faze:

a) testul de vacuumare;

b) îndepărtarea aerului cu umidificarea obiectelor;

c) sterilizarea (expunere la formaldehidă);

d) purjarea aburului şi a aerului;

e) aerarea.

Art. 103

Parametrii programelor automate de sterilizare sunt:

a) temperatura de 73°C, presiune subatmosferică, timp de sterilizare 10 minute; durata procesului 3-5 ore;

b) temperatura de 80°C, presiune subatmosferică, timp de sterilizare 10 minute;

c) temperatura de 65°C, presiune subatmosferică, timp de sterilizare 30 de minute.

Art. 104

Se admit şi alţi parametrii ai programelor automate de sterilizare recomandaţi de producătorul aparatului.

Art. 105

Este obligatorie citirea cu atenţie a instrucţiunilor de utilizare şi a cărţii tehnice a aparatului pentru a folosi temperatura (presiunea) şi timpul de sterilizare recomandate de producător pentru materialele de sterilizat împachetate.

Art. 106

Formaldehidă este stocată în stare lichidă în doze de sticlă dimensionate pentru un singur ciclu de sterilizare.

Art. 107

Sunt obligatorii achiziţionarea şi utilizarea de formaldehidă îmbuteliată direct de către producător.

Art. 108

Verificarea eficienţei sterilizării se face respectând următoarele:

a) vor fi citite şi interpretate diagramele înregistrate ale ciclului complet de sterilizare: se citesc temperatura, presiunea, presiunea negativă (vidul) şi durata;

b) indicatorii fizico-chimici, martori ai trecerii prin procesul de sterilizare, special fabricaţi pentru sterilizarea cu formaldehidă;

c) pentru fiecare ciclu se folosesc teste biologice (bacteriologice) cu spori de Bacillus stearothermophyllus.

Art. 109

În registrul de evidenţă a sterilizării se notează: numărul şarjei şi conţinutul pachetelor, data şi ora de debut şi sfârşit ale ciclului, temperatura la care s-a efectuat sterilizarea, rezultatele indicatorilor fizico-chimici şi biologici, numele şi semnătura persoanei responsabile cu sterilizarea, observaţii, data la care s-au efectuat întreţinerea şi verificarea aparatului.

Art. 110

Se notează pe fiecare ambalaj data sterilizării.

Art. 111

Sterilizarea cu formaldehidă se realizează în spaţii ventilate, destinate numai pentru această activitate.

Art. 112

Este obligatoriu controlul periodic al concentraţiei în aer a formaldehidei prin serviciul tehnic al spitalului.

ANEXA Nr. 1: LISTA substanţelor chimice active permise în produsele dezinfectante în Comunitatea Europeană

DENUMIREA SUBSTANŢEI	Număr CE (Comunitatea	Număr CAS (Chemical Abstract

	Europeană)	Substances)
Nonanoic acid	203-931-2	112-05-0
2,6-dimethyl-1,3-dioxan-4-yl acetate	212-579-9	828-00-2
Tetradonium bromide	214-291-9	1119-97-7
.alpha.,.alpha.',.alpha."-trimethyl-1,3,5-triazine-1,3,5 (2H,4H,6H)-triethanol	246-764-0	25254-50-6
3-Phenoxybenzyl-2-(4-ethoxyphenyl)-2-methylpropylether/Etofenprox	407-980-2	80844-07-1
5-Chloro-2-(4-chlorphenoxy)phenol	418-890-8	3380-30-1
Bis[1-cyclohexyl-1,2-di(hydroxyl-.kappa.O)diazeniumato(2-)] copper		312600-89-8
Formic acid	200-579-1	64-18-6
Citric acid	201-069-1	77-92-9
Chloroxylenol	201-793-8	88-04-0
Thiram	205-286-2	137-26-8
Ziram	205-288-3	137-30-4
Metam-sodium	205-293-0	137-42-8
Silver chloride	232-033-3	7783-90-6
Potassium methyldithiocarbamate	205-292-5	137-41-7
Disodium cyanodithiocarbamate	205-346-8	138-93-2
2,4-Dichlorobenzyl alcohol	217-210-5	1777-82-8
1,3-didecyl-2-methyl-1H-imidazolium chloride	274-948-0	70862-65-6
Bis(3-aminopropyl)-octylamine	433-340-7	86423-37-2
Formaldehyde	200-001-8	50-00-0
Benzoic acid	200-618-2	65-85-0
Propan-2-ol	200-661-7	67-63-0
Propan-1-ol	200-746-9	71-23-8
L-(+)-lactic acid	201-196-2	79-33-4
Hexa-2,4-dienoic acid/Sorbic acid	203-768-7	110-44-1
Sodium benzoate	208-534-8	532-32-1
Sulphur dioxide	231-195-2	7446-09-5
Calcium dihexa-2,4-dienoate	231-321-6	7492-55-9
Polyvinylpyrrolidone iodine	Polimer	25655-41-8
Sodium hydrogensulphite	231-548-0	7631-90-5
Disodium disulphite	231-673-0	7681-57-4
Sodium sulphite	231-821-4	7757-83-7
Silver nitrate	231-853-9	7761-88-8
Potassium sulphite	233-321-1	10117-38-1
Dipotassium disulphite	240-795-3	16731-55-8
Potassium (E, E)-hexa-2,4-dienoate	246-376-1	24634-61-5
1-[2-(Allyloxy)-2-(2,4-Dichlorophenyl)ethyl]-1H-imidazole/Imazalil	252-615-0	35554-44-0
Reaction products of: glutamic acid and N-(C12-14-alkyl) propylenediamine	403-950-8	164907-72-6
Potassium salts of fatty acids (C15-21)	Amestec	
(±)-1-(.beta.-Allyloxy-2,4-dichlorophenylethyl) imidazole/Technical grade imazalil	Produs pentru protecţia plantelor	73790-28-0
Triclosan	222-182-2	3380-34-5
2,2-Dibromo-2-cyanoacetamide	233-539-7	10222-01-2
Peracetic acid	201-186-8	79-21-0
Bromine chloride	237-601-4	13863-41-7
Ethanol	200-578-6	64-17-5
Lignin	232-682-2	9005-53-2
N-Didecyl-N-dipolyethoxyammonium borate/Didecylpolyoxethylammonium borate	Polimer	214710-34-6
Bronopol	200-143-0	52-51-7
Biphenyl-2-ol	201-993-5	90-43-7
Sodium 2-biphenylate	205-055-6	132-27-4
Thiabendazole	205-725-8	148-79-8
1,2-Benzisothiazol-3(2H)-one	220-120-9	2634-33-5

Tetrahydro-1,3,4,6-tetrakis(hydroxymethyl)imidazo[4,5-d] imidazole-2,5(1H,3H)-dione	226-408-0	5395-50-6
Dodecylguanidine monohydrochloride	237-030-0	13590-97-1
Dimethyloctadecyl[3-(trimethoxy silyl)propyl]ammonium chloride	248-595-8	27668-52-6
Melaleuca alternifolia, ext./Australian tea tree oil	285-377-1	85085-48-9
2,4,8,10-tetra(tert-butyl)-6-hydroxy-12H-dibenzo[d,g] [1,3,2] dioxapho sphocin 6-oxide, sodium salt	286-344-4	85209-91-2
Quaternary ammonium iodides	Amestec	308074-50-2
Aluminium sodium silicate-silver zinc complex/Silverzinc-zeolite	Produs pentru protecţia plantelor	130328-20-0
Silver zeolite A		
Glutaral	203-856-5	111-30-8
Hydrogen peroxide	231-765-0	7722-84-1
1 -[[2-(2,4-Dichlorophenyl)-4-propyl-1,3-dioxolan-2-yl]methyl]-lH-l,2,4-triazole/Propiconazole	262-104-4	60207-90-1
Chlorocresol	200-431-6	59-50-7
Glyoxal	203-474-9	107-22-2
m-Cresol	203-577-9	108-39-4
Phthalaldehyde	211-402-2	643-79-8
Hydroxyl-2-pyridone	212-506-0	822-89-9
Copper	231-159-6	7440-50-8
Copper sulphate	231-847-6	7758-98-7
Sodium p-chloro-m-cresolate	239-825-8	15733-22-9
Mixture of 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-one (EINECS 247-500-7) and 2-methyl-2H-isothiazol-3-one (EINECS 220-239-6)	Amestec	55965-84-9
Monohydrochloride of polymer of N, N'''-1,6-hexanediylbis[N'-cyanoguanidine] (EINECS 240-032-4) and hexamethylenediamine (EINECS 240-679-6)/Polyhexamethylene biguanide (monomer: 1,5-bis(trimethylen)-guanylguanidinium monohydrochloride)	Polimer	27083-27-8
Oligo-(2-(2-ethoxy)ethoxyethyl guanidinium chloride)	Polimer	374572-91-5
Poly-(hexamethylendiamine guanidinium chloride)	Polimer	57028-96-3
Polyhexamethylene biguanide	Polimer	91403-50-8
Peroxyoctanoic acid		33734-57-5
1,3-Bis(hydroxymethyl)urea	205-444-0	140-95-4
2-Butanone, peroxide	215-661-2	1338-23-4
Tar acids, polyalkylphenol fraction	284-893-4	84989-05-9
Reaction product of dimethyl adipate, dimethyl glutarate, dimethyl succiante with hydrogen peroxide/Perestane	432-790-1	
Silver-zinc-aluminium-boronphosphate glass/Glass oxide, silver- and zinc-containing	Număr nealocat încă	398477-47-9
Polymer of N-Methylmethanamine (EINECS 204-697-4 with (chloromethyl)oxirane (EINECS 203-439-8)/Polymeric quaternary ammonium chloride	Polimer	25988-97-0
Dichlorophen	202-567-1	97-23-4
Sodium 2,4,6-trichlorophenolate	223-246-2	3784-03-0
m-Phenoxybenzyl 3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarbo xylate/Permethrin	258-067-9	52645-53-1
Amines, n-C10-16-alkyltrimethylenedi-, reaction products with chloroacetic acid	Amestec	139734-65-9
Didecyldimethylammonium chloride	230-525-2	7173-51-5
Sodium hypochlorite	231-668-3	7681-52-9
Calcium hypochlorite	231-908-7	7778-54-3
Chlorine	231-959-5	7782-50-5
Quaternary ammonium compounds, benzyl-C12-18-alkyldimethyl, chlorides	269-919-4	68391-01-5
Quaternary ammonium compounds, benzyl-C12-16-alkyldimethyl, chlorides	270-325-2	68424-85-1
Quaternary ammonium compounds, di-C8-10-alkyldimethyl, chlorides	270-331-5	68424-95-3
Quaternary ammonium compounds, benzyl-C12-14-alkyldimethyl, chlorides	287-089-1	85409-22-9
Quaternary ammonium compounds, C12-14-alkyl [(ethylpheny l) methyl] di methyl, chlorides	287-090-7	85409-23-0

6-(Phthalimido)peroxyhexanoic acid	410-850-8	128275-31-0
Bacillus sphaericus	Micro-organism	143447-72-7
Bacillus thuringiensis subsp. Israelensis Serotype H14	Micro-organism	
Quaternary ammonium compounds (benzylalkyldimethyl (alkyl from C8-C22 saturated and unsaturated, and tallow alkyl, coco alkyl and soya alkyl) chlorides, bromides, or hydroxides)/BKC	Amestec de substanţe din lista EINECS*	
Quaternary ammonium compounds (dialkyldimethyl(alkyl from C6-C18 saturated and unsaturated, and tallow alkyl, coco alkyl and soya alkyl) chlorides, bromides, or methylsulphates)/DDAC	Amestec de substanţe din lista EINECS*	
Poly(oxy-1,2-ethanediyl),.alpha.-[2-(didecylmethylammonio)ethyl]-.omega.-hydroxy-, propanoate (salt)	Polimer	94667-33-1
Salicylic acid	200-712-3	69-72-7
Glycollic acid	201-180-5	79-14-1
Quaternary ammonium compounds, [2-[[2-[(2-carboxyethyl)(2-hydroxyethyl)amino]ethyl]amino]-2-oxoethyl]coco alkyldimethyl, hydroxides, inner salts	309-206-8	100085-64-1
Hydrogen chloride/Hydrochloric acid	231-595-7	7647-01-0
Sodium hydrogen 2,2'-methylenebis[4-chlorophenolate]	233-457-1	10187-52-7
Tetrakis(hydroxymethyl)pho sphonium sulphate (2:1)	259-709-0	55566-30-8
Quaternary ammonium compounds, benzyl-C12-18-alkyldimethyl, salts with 1,2-benzisothiazol-3(2H)-one 1,1-dioxide (1:1)	273-545-7	68989-01-5
1,3-Dibromo-5,5-dimethylhydantoin	201-030-9	77-48-5
1,3-Dichloro-5,5-dimethylhydantoin	204-258-7	118-52-5
Disodium tetraborate, anhydrous	215-540-4	1330-43-4
Sodium bromide	231-599-9	7647-15-6
Boric acid	233-139-2	10043-35-3
Disodium octaborate tetrahydrate	234-541-0	12280-03-4
Bromochloro-5,5-dimethylimidazolidine-2,4-dione	251-171-5	32718-18-6
1,3-Dichloro-5-ethyl-5-methylimidazolidine-2,4-dione	401-570-7	89415-87-2
Nabam	205-547-0	142-59-6
Sodium hydrogencarbonate	205-633-8	144-55-8
4,5-Dichloro-3H-1,2-dithiol-3-one	214-754-5	1192-52-5
Mecetronium ethyl sulphate	221-106-5	3006-10-8
(Ethylenedioxy)dimethanol	222-720-6	3586-55-8
2,2',2"-(Hexahydro-1,3,5-triazine-1,3,5-triyl)triethanol	225-208-0	4719-04-4
1,3-Bis(hydroxymethyl)-5,5-dimethylimidazolidine-2,4-dione	229-222-8	6440-58-0
3,3'-Methylenebis[5-methyloxazolidine]/Oxazolidin	266-235-8	66204-44-2
Magnesium-monoperoxyphthalat-hexahydrate	279-013-0	84665-66-7
Tributyltetradecylphosphoni um chloride	279-808-2	81741-28-8
Urea, N,N'-bis(hydroxymethyl)-, reaction products with 2-(2-butoxyethoxy)ethanol, ethylene glycol and formaldehyde	292-348-7	90604-54-9
Silver sodium hydrogen zirconium phosphate	Număr nealocat încă	
N-(3-aminopropyl)-N-dodecylpropane-1,3-diamine	219-145-8	2372-82-9
Sodium chlorite	231-836-6	7758-19-2
Sodium chlorate	231-887-4	7775-09-9
Chlorine dioxide	233-162-8	10049-04-4
D-gluconic acid, compound with N, N"-bis(4-chlorophenyl)-3,12-diimino-2,4,11,13-tetraazatetradecanediamidin e(2:1)	242-354-0	18472-51-0
Benzoxonium chloride	243-008-1	19379-90-9
Amines, C10-16-alkyldimethyl, N-oxides	274-687-2	70592-80-2
Tosylchloramide sodium	204-854-7	127-65-1
Pyridine-2-thiol 1-oxide, sodium salt	223-296-5	3811-73-2
Iodine	231-442-4	7553-56-2
Ammonium bromide	235-183-8	12124-97-9
2-methyl-2H-isothiazol-3-one	220-239-6	2682-20-4
Pentapotassium bis(peroxymonosulphate) bis(sulphate)	274-778-7	70693-62-8
N,N'-(decane-1,10-diyldi-l(4H)-pyridyl-4-ylidene)bis (octylammonium) dichloride	274-861-8	70775-75-6
Triclocarban	202-924-1	101-20-2
Silver	231-131-3	7440-22-4

Active chlorine: mixture of hypochlorous acid and sodium hypochlorite produced in situ	Amestec	
Symclosene	201-782-8	87-90-1
Benzyl benzoate	204-402-9	120-51-4
Benzethonium chloride	204-479-9	121-54-0
2-Phenoxyethanol	204-589-7	122-99-6
Cetylpyridinium chloride	204-593-9	123-03-5
Nitromethylidynetrimethanol	204-769-5	126-11-4
Potassium dimethyldithiocarbamate	204-875-1	128-03-0
Sodium dimethyldithiocarbamate	204-876-7	128-04-1
Monolinuron	217-129-5	1746-81-2
Troclosene sodium	220-767-7	2893-78-9
Sodium dichloroisocyanurate dihydrate	220-767-7	51580-86-0
Terbuthylazine	227-637-9	5915-41-3
(benzyloxy)methanol	238-588-8	14548-60-8
Mixture of cis- and trans-p-menthane-3,8 diol/Citriodiol	255-953-7	42822-86-6
Mixture of 1-phenoxypropan-2-ol (EINECS 212-222-7) and 2-phenoxypropanol (EINECS 224-027-4)	Amestec	
Active Chlorine: manufactured by the reaction of hypochlorous acid and sodium hypochlorite produced in situ	Amestec	
Guazatine triacetate	Produs pentru protecţia plantelor	115044-19-4
Homopolymer of 2-tert-butylaminoethyl methacrylate (EINECS 223-228-4)	Polimer	26716-20-1
N, N,N',N' - Tetramethylethylenediamine-bis(2-chloroethyl) ether copolymer	Polimer	31075-24-8
Ethylene oxide	200-849-9	75-21-8
Clorophene	204-385-8	120-32-1
Benzothiazole-2-thiol	205-736-8	149-30-4
(benzothiazol-2-ylthio)methyl thiocyanate	244-445-0	21564-17-0

*) EINECS = Inventarul European al Substanţelor Comerciale Existente.

ANEXA Nr. 2: LISTA standardelor din România aplicabile în unităţile sanitare, în domeniul curăţării, dezinfecţiei şi sterilizării

SR EN 1040:2000	Antiseptice şi dezinfectante chimice. Activitatea bactericidă de bază. Metoda de testare şi prescripţii (faza 1)
SR EN 1275:2000	Antiseptice şi dezinfectante chimice. Activitatea fungicidă de bază. Metoda de testare şi prescripţii (faza 1)
SR EN 1276:2000	Antiseptice şi dezinfectante chimice. Testul cantitativ al suspensiei pentru evaluarea activităţii bactericide a antisepticelor şi dezinfectantelor chimice, utilizate în domeniul agroalimentar, în industrie, în domeniul casnic şi în colectivităţi. Metoda de testare şi prescripţii (faza 2/etapa 1)
SR EN 1650:2000	Antiseptice şi dezinfectante chimice. Testul cantitativ al suspensiei pentru evaluarea activităţii fungicide a antisepticelor şi dezinfectantelor chimice, utilizate în domeniul agroalimentar, în industrie, în domeniul casnic şi în colectivităţi. Metoda de testare şi prescripţii (faza 2/etapa 1)
SR EN 1499:2000	Antiseptice şi dezinfectante chimice. Dezinfecţia igienică a mâinilor prin spălare. Metoda de testare şi prescripţii, (faza 2/etapa 2)
SR EN 1500:2000	Antiseptice şi dezinfectante chimice. Dezinfecţia igienică a mâinilor prin frecare. Metoda de testare şi prescripţii (faza 2/etapa 2)
SR EN 13624:2004	Antiseptice şi dezinfectante chimice. Testul cantitativ al suspensiei pentru evaluarea activităţii fungicide a dezinfectantelor pentru instrumentar, utilizate în domeniul medical. Metoda de testare şi prescripţii (faza 2/etapa 1)
SR EN 13727:2004	Antiseptice şi dezinfectante chimice. Testul cantitativ al suspensiei pentru evaluarea activităţii bactericide a dezinfectantelor pentru instrumentar, utilizate în domeniul medical. Metoda de testare şi prescripţii (faza 2/etapa 1)
SR EN 14348:2005	Antiseptice şi dezinfectante chimice. Testul cantitativ al suspensiei pentru evaluarea activităţii micobactericide a dezinfectantelor chimice de uz medical, inclusiv a dezinfectantelor pentru instrumentar. Metode de testare şi cerinţe (faza 2/etapa 1)
SR EN 1174-1:1999	Sterilizarea dispozitivelor medicale. Estimarea populaţiei de microorganisme pe produs. Partea 1: Cerinţe
SR EN 1174-2:1999	Sterilizarea dispozitivelor medicale. Estimarea populaţiei de microorganisme pe produs. Partea 2: Ghid

SR EN 1174-3:1999	Sterilizarea dispozitivelor medicale. Estimarea populaţiei de microorganisme pe produs. Partea 3: Ghid pentru metodele de validare a tehnicilor microbiologice
SR EN 13060:2004	Sterilizatoare mici cu abur
SR EN 13824:2005	Sterilizarea dispozitivelor medicale. Tratarea aseptică a dispozitivelor medicale lichide. Cerinţe
SR EN 14180:2004	Sterilizatoare pentru scopuri medicale. Sterilizatoare cu abur şi formaldehidă la temperatură joasă. Cerinţe şi încercări
SR EN 1422:2003	Sterilizatoare de uz medical. Sterilizatoare cu oxid de etilena. Cerinţe şi metode de verificare
SR EN 285:2003	Sterilizare. Sterilizare cu abur. Sterilizatoare mari
SR EN 550:1997	Sterilizarea dispozitivelor medicale. Validare şi control de rutină pentru sterilizarea cu oxid de etilena
SR EN 552:2001	Sterilizarea dispozitivelor medicale. Validare şi control de rutină pentru sterilizare prin iradiere
SR EN 552:2001/A1:2003	Sterilizarea dispozitivelor medicale. Validare şi control de rutină pentru sterilizare prin iradiere
SR EN 552:2001/A2:2003	Sterilizarea dispozitivelor medicale. Validare şi control de rutină pentru sterilizarea prin iradiere
SR EN 554:2003	Sterilizarea dispozitivelor medicale. Validare şi control de rutină pentru sterilizarea cu căldură umedă
SR EN 556-1:2003	Sterilizarea dispozitivelor medicale. Cerinţe pentru dispozitivele medicale etichetate "steril". Partea 1: Cerinţe pentru dispozitivele medicale sterilizate în faza finală
SR EN 556-2:2004	Sterilizarea dispozitivelor medicale. Cerinţe pentru dispozitivele medicale etichetate STERIL. Partea 2: Cerinţe pentru dispozitivele medicale procesate aseptic
SR EN 867-3:2003	Sisteme nebiologice pentru utilizare în sterilizatoare. Partea 3: Specificaţie pentru indicatorii de Clasa B utilizaţi în testul Bowie şi Dick
SR EN 868-1:2003	Materiale şi sisteme de ambalare pentru dispozitivele medicale care urmează a fi sterilizate
SR EN 980:2003	Simboluri grafice utilizate pentru etichetarea dispozitivelor medicale
SR EN ISO 10993-1:2004	Evaluarea biologică a dispozitivelor medicale. Partea 1: Evaluare şi testare
SR EN ISO 11140-1:2006	Sterilizarea produselor de îngrijire a sănătăţii. Indicatori chimici. Partea 1: Cerinţe generale
SR EN ISO 13485:2004	Dispozitive medicale. Sisteme de management al calităţii. Cerinţe pentru scopuri de reglementare
SR EN ISO 14160:2003	Sterilizarea dispozitivelor medicale de unică utilizare cu conţinut de materiale de origine animală. Validare şi control de rutină al sterilizării prin agenţi de sterilizare chimici lichizi
SR EN ISO 14937:2003	Sterilizarea produselor medicale pentru îngrijirea sănătăţii. Cerinţe generale pentru caracterizarea agentului de sterilizare, desfăşurarea, validarea şi controlul de rutină al proceselor de sterilizare pentru dispozitivele medicale
EN ISO 9001:2000	Sisteme de management al calităţii

Publicat în Monitorul Oficial cu numărul 128 din data de 21 februarie 2007

MINISTERUL SANATATII PUBLICE
ORDIN Nr. 1.149 din 29 iunie 2007
pentru aprobarea Normelor privind infiintarea si autorizarea punctelor externe de recoltare ale laboratoarelor care efectueaza analize medicale in regim ambulatoriu, precum si a conditiilor de organizare si functionare a acestora

Avand in vedere prevederile Legii nr. 95/2006 privind reforma in domeniul sanatatii, cu modificarile si completarile ulterioare,
in temeiul dispozitiilor Hotararii Guvernului nr. 862/2006 privind organizarea si functionarea Ministerului Sanatatii Publice, vazand Referatul de aprobare al Directiei generale politici, strategii si managementul calitatii in sanatate nr. E.N. 6.891/2007,
ministrul sanatatii publice emite urmatorul ordin:
Art. 1. - (1) Se aproba Normele privind infiintarea si autorizarea punctelor externe de recoltare ale laboratoarelor care efectueaza analize medicale in regim ambulatoriu, precum si a conditiilor de organizare si functionare a acestora, prevazute in anexa care face parte integranta din prezentul ordin.
(2) Activitatea de recoltare a probelor de sange la nivelul punctelor externe de recoltare ale laboratoarelor prevazute la alin. (1) se desfasoara in cadrul Programului national privind evaluarea starii de sanatate a populatiei in asistenta medicala primara.
Art. 2. -Autorizatia de functionare pentru punctele externe de recoltare ale laboratoarelor care efectueaza analize medicale in regim ambulatoriu, infiintate conform prezentului ordin, isi inceteaza valabilitatea la incheierea perioadei de derulare a Programului national privind evaluarea starii de sanatate a populatiei in asistenta medicala primara.
Art. 3. - Directiile de specialitate din cadrul Ministerului Sanatatii Publice, autoritatile de sanatate publica judetene si a municipiului Bucuresti, precum si laboratoarele de analize medicale vor duce la indeplinire prevederile prezentului ordin.
Art. 4. - Prezentul ordin se publica in Monitorul Oficial al Romaniei, Partea I.

Bucuresti, 29 iunie 2007.

ANEXA
NORME privind infiintarea si autorizarea punctelor externe de recoltare ale laboratoarelor care efectueaza analize medicale in regim ambulatoriu, precum si a conditiilor de organizare si functionare a acestora

Art. 1. - (1) Laboratoarele de analize medicale, indiferent de forma de infiintare si organizare, trebuie sa functioneze numai in baza autorizatiei sanitare de functionare.
(2) Punctele externe de recoltare ale laboratoarelor care efectueaza analize medicale in sistem ambulatoriu se infiinteaza potrivit dispozitiilor cuprinse in prezentul ordin si functioneaza pe baza autorizatiei sanitare de functionare emise de autoritatile de sanatate publica judetene si a municipiului Bucuresti.
(3) Autorizatia sanitara de functionare a laboratoarelor de analize medicale constituie actul care atesta intrunirea conditiilor igienico-sanitare pentru functionarea acestora.
Art. 2. -Autorizatia sanitara de functionare se elibereaza la cererea reprezentantului legal al laboratorului de analize medicale adresata, dupa caz, autoritatii de sanatate publica judetene sau a municipiului Bucuresti in a carei raza administrativ-teritoriala isi are sediul, filiale sau puncte de lucru laboratorul de analize medicale respectiv.
Art. 3. - (1) Documentele necesare pentru solicitarea autorizatiei sanitare de functionare sunt:
a) cerere;
b) dosar tehnic, care va cuprinde: planul dimensionat cu structura interioara, dotarile necesare desfasurarii activitatii supuse autorizarii, prezentarea circuitelor functionale, modul de asigurare a iluminatului, ventilatiei, temperaturii ambientale, schita retelelor de utilitati sau modul de asigurare a acestora (apa potabila, apa calda menajera, evacuarea apelor uzate menajere, evacuarea deseurilor solide si a deseurilor periculoase rezultate din activitatea desfasurata);
c) declaratie pe propria raspundere referitoare la asigurarea conformarii la conditiile igienico-sanitare stabilite de prezentul ordin;

d) copie de pe certificatul de inmatriculare la registrul comertului si, daca este cazul, cerere de mentiune la registrul comertului pentru inregistrarea punctului extern de recoltare al laboratorului care solicita autorizarea;
e) dovada detinerii legale a spatiului pentru care se solicita autorizarea.
(2) Formularul autorizatiei sanitare de functionare va cuprinde toate datele prevazute de legislatia in vigoare.
Art. 4. - (1) Cererea de autorizare si dosarul cuprinzand documentele prevazute la art. 3 se depun la Serviciul/Biroul evaluarea factorilor de mediu si avizare/autorizare sanitara,
unde sunt verificate si, in cazul in care documentatia este completa, cererea se inregistreaza si se retine spre solutionare.
(2) Rezolvarea solicitarii se va face gratuit, in termen de maximum 15 zile de la data inregistrarii cererii.
Art. 5. - (1) Ministerul Sanatatii Publice, prin structurile sale specializate, controleaza indeplinirea conditiilor de autorizare de catre laboratoarele de analize medicale care au fost autorizate in conditiile prezentului ordin.
(2) Autoritatile de sanatate publica judetene si a municipiului Bucuresti care au eliberat autorizatiile sanitare de functionare, prin structurile specializate ale acestora, au obligatia de a verifica periodic respectarea conditiilor igienico-sanitare de catre laboratoarele de analize medicale care au fost autorizate in conditiile prezentului ordin.
Art. 6. - (1) Spatiul necesar functionarii punctelor externe de recoltare ale laboratoarelor care efectueaza analize medicale in sistem ambulatoriu trebuie sa fie astfel structurat incat sa asigure un nivel calitativ superior serviciilor efectuate pentru populatie.
(2) Punctul de recoltare trebuie sa dispuna de intrare separata, cu acces direct, avand urmatoarea compartimentare obligatorie:
a) sala de asteptare;
b) spatiu de recoltare;
c) spatii anexe:
- spatiu pentru depozitarea materialelor sanitare;
- vestiar si sala pentru personal;
- doua grupuri sanitare: unul destinat personalului care deserveste punctul extern de recoltare al laboratorului de analize medicale si altul destinat pacientilor, iar pentru cazurile in care nu este posibila existenta a doua grupuri sanitare, punctul extern de recoltare al laboratorului de analize medicale este dotat cu un grup sanitar cu doua compartimente: unul destinat personalului care deserveste punctul extern de recoltare al laboratorului de analize medicale si altul destinat pacientilor.
Art. 7. - (1) Spatiul si mobilierul punctului extern de recoltare al laboratorului de analize medicale trebuie astfel concepute incat sa nu permita contaminarea mediului si a personalului.
(2) Podelele, peretii, tavanele si suprafetele de lucru trebuie sa aiba suprafata neteda, lavabila, neabsorbanta, rezistenta la actiunea agentilor dezinfectanti, usor de curatat si de dezinfectat.
(3) Unghiurile dintre pereti si podea trebuie sa fie concave (rotunjite).
(4) Articolele si echipamentele specifice activitatii de laborator trebuie depozitate in dulapuri suspendate, fara a se folosi lemn neslefuit si negeluit, astfel incat sa permita curatarea cu usurinta.
Art. 8. - (1) Spatiul punctului extern de recoltare al laboratorului de analize medicale trebuie sa fie aerisit corespunzator, natural, artificial sau prin folosirea instalatiei de aer conditionat, cu respectarea conditiilor pentru reducerea riscului de contaminare.
(2) in timpul lucrului usile si ferestrele raman in permanenta inchise.
Art. 9. - Igiena in cadrul punctului extern de recoltare al laboratorului de analize medicale face obiectul programului de igienizare intocmit, coordonat si controlat de catre coordonatorul medical al laboratorului de analize medicale in structura caruia este organizat si functioneaza punctul extern de recoltare respectiv.
Art. 10. - (1) Punctul extern de recoltare al laboratorului de analize medicale trebuie sa aiba in dotare:
a) recipiente corespunzatoare, cu capac, pentru depozitarea deseurilor contaminate, in vederea sterilizarii si apoi, dupa caz, a incinerarii;
b) recipiente cu capac, din materiale care sa permita spalarea si decontaminarea lor, in vederea colectarii, depozitarii intermediare si transportarii deseurilor menajere;
c) recipiente acoperite, rezistente, pentru depozitarea exterioara a deseurilor menajere pana la evacuare.
(2) Laboratorul de analize medicale in structura caruia este organizat si functioneaza punctul extern de recoltare respectiv trebuie sa incheie cu societati specializate un contract de colectare si neutralizare a deseurilor rezultate din activitatea desfasurata in cadrul punctului de recoltare respectiv sau sa aiba in dotare un sistem propriu de neutralizare a deseurilor, potrivit prevederilor legale in vigoare.
Art. 11. - Organizarea colectarii si evidentei gestiunii deseurilor rezultate in urma desfasurarii activitatii medicale in cadrul punctului/punctelor externe de recoltare se realizeaza in conformitate cu dispozitiile legale in vigoare.

Art. 12. - (1) in cadrul punctului extern de recoltare se delimiteaza un spatiu de recoltare destinat acestui gen de activitate dotat cu:
a) canapea sau scaun cu spatar extensibil, cu accesorii pentru sustinerea antebratului;
b) dulap pentru instrumentar steril;
c) masuta pentru pregatirea prelevarii probei;
d) masuta pentru depozitarea temporara a fluidelor prelevate.
(2) Accesul pacientilor in spatiul destinat recoltarii probelor este permis numai in timpul programului de recoltare.
Art. 13. -in scopul asigurarii lantului de frig punctul extern de recoltare al laboratorului de analize medicale trebuie sa aiba in dotare:
a) cel putin un frigider cu congelator, care va fi prevazut cu usa ia acest compartiment, precum si cu termometru pentru monitorizarea temperaturii interioare; inregistrarile privind graficele de temperatura ale frigiderului vor fi cuprinse intr-un registru separat;
b) cel putin o geanta izoterma pentru transportul probelor biologice recoltate.
Art. 14. - Reprezentantul legal al laboratorului de analize medicale raspunde de organizarea transportului in siguranta al probelor recoltate, asigurand in acest sens indeplinirea urmatoarelor conditii:
a) mijloc de transport auto individualizat si care este utilizat numai pentru aceasta activitate;
b) containere speciale cu pereti impermeabili, cu posibilitate de inchidere, usor transportabile, din materiale care sa permita decontaminarea, curatarea si dezinfectia lor, pentru a evita contaminarea persoanei care transporta probele si/sau a mediului.
Art. 15. -Autoritatea de sanatate publica autorizeaza activitatea de transport al probelor biologice, la solicitarea reprezentantului legal al laboratorului de analize medicale, daca indeplineste, cumulativ, urmatoarele conditii:
a) mijloc de transport auto individualizat si care este utilizat numai pentru aceasta activitate;
b) containere speciale cu pereti impermeabili, cu posibilitate de inchidere, usor transportabile, din materiale care sa permita decontaminarea, curatarea si dezinfectia lor, pentru a evita contaminarea persoanei care transporta probele si/sau a mediului.
Art. 16. - Punctele externe de recoltare ale laboratoarelor de analize medicale trebuie sa respecte, obligatoriu si cumulativ, urmatoarele norme igienico-sanitare:
a) asigurarea cu apa potabila, in conformitate cu prevederile legale in vigoare;
b) racordarea la reteaua de canalizare a orasului/localitatii sau, in cazurile in care nu exista sisteme publice de canalizare, dotarea acestora cu instalatii proprii de colectare, tratare si evacuare a apelor uzate, astfel incat sa nu se produca poluarea solului, a apei si a aerului;
c) deseurile rezultate in urma activitatilor medicale vor fi colectate, depozitate, evacuate si neutralizate conform prevederilor legale in vigoare;
d) asigurarea unui microclimat corespunzator;
e) asigurarea iluminarii naturale si artificiale necesare desfasurarii in conditii optime a activitatii medico-sanitare;
f) asigurarea limitarii zgomotului sub normele admise si/sau asigurarea protectiei antifonice eficiente in interiorul si in afara punctelor externe de recoltare ale laboratorului de analize medicale;
g) asigurarea cu materiale pentru efectuarea curateniei; h) asigurarea cu dezinfectante, antiseptice si deconta-minante avizate de Ministerul Sanatatii Publice; folosirea acestora se va face in functie de instructiunile de utilizare, la concentratiile si timpii de utilizare specificati de producator;
i) asigurarea de echipament de protectie a personalului sanitar, in conformitate cu legislatia in vigoare;
j) asigurarea instruirii permanente a personalului medico-sanitar privind precautiile universale.
Art. 17. - Recoltarea probelor biologice in cadrul punctelor externe de recoltare ale laboratoarelor de analize medicale se realizeaza numai de catre personalul de specialitate al acestora.
Art. 18. - (1) Programul de functionare al punctului extern de recoltare al laboratorului de analize medicale va fi stabilit de catre reprezentantul legal al laboratorului de analize medicale in structura caruia este organizat, in cadrul intervalului cuprins intre orele 7,00/8,00 si 10,00/11,00, in functie de volumul activitatii si de incadrarea cu personal de specialitate.
(2) Programul de functionare stabilit conform prevederilor alin. (1) va fi afisat la loc vizibil si va fi comunicat autoritatii de sanatate publica judetene sau a municipiului Bucuresti, in a carei raza administrativ-teritoriala isi are sediul, filiale sau puncte de lucru laboratorul de analize medicale respectiv, precum si casei de asigurari de sanatate cu care are incheiat contract pentru derularea Programului national privind evaluarea starii de sanatate a populatiei in asistenta medicala primara.
MONITORUL OFICIAL Nr. 451 / Miercuri, 4 iulie 2007

ASOCIAȚIA DE ACREDITARE DIN ROMÂNIA
ORGANISMUL NAȚIONAL DE ACREDITARE

POLITICA PRIVIND TRASABILITATEA REZULTATELOR MĂSURĂRILOR

RENAR Cod: **P–05**

Ediția 2
Revizia: 0
Data: 08.2008

Exemplar nr.

ELABORAT

Alexandru Țibuleac
Preşedinte
Comitet Tehnic Laboratoare

APROBAT
Consiliu Director

Prof. univ. dr. ing. Fănel IACOBESCU
Preşedinte

VERIFICAT

Daniela Ionescu
Manager Calitate

Reproducerea integrală sau parțială, dacă nu există acordul scris al RENAR, a prezentului document în orice publicații şi prin orice procedeu (electronic, mecanic, fotocopiere, microfilme, etc.), este interzisă.

1. REFERINȚE

SR EN ISO/CEI 17011:2005 – Evaluarea conformității. Cerințe generale pentru organismele de acreditare care acreditatează organisme de evaluare a conformității
ILAC-P10:2002 ILAC Policy on Traceability of Measurements Results
EA 4-07 (EAL G-12) Traceability of mesuring and test equipment to national standards

2. SCOP

Prezenta politică urmăreşte creşterea credibilității în sistemul de acreditare RENAR şi armonizarea practicilor RENAR cu cele europene şi internaționale.

3. DEFINIȚII

Trasabilitatea este proprietatea rezultatului unei măsurării sau a valorii unui etalon de a putea fi raportate la referințe stabilite, de regulă etaloane naționale sau internaționale, prin intermediul unui lanț neîntrerupt de comparări, având toate incertitudini determinate (definiție conform VIM transpus prin SR 13251:1995).

Trasabilitatea este caracterizată de şase elemente esențiale:

Un lanț neîntrerupt de comparări: care merge până la etaloanele de referință declarate şi acceptate de părțile implicate, de obicei etaloane naționale sau internaționale;

Incertitudinea măsurării: Incertitudinea măsurării trebuie să fie calculată sau estimată în conformitate cu metode convenite şi trebuie să fie declarată, pentru fiecare etapă din lanțul trasabilității, astfel încât să poată fi calculată sau estimată incertitudinea totală pentru tot lanțul de comparări;

Documentare: Fiecare etapă din lanț trebuie să fie efectuată conform documentației şi procedurilor general recunoscute; rezultatele trebuie să fie înregistrate;

Competența: Laboratoarele sau organismele care efectuează una sau mai multe etape din lanțul de comparări trebuie să furnizeze dovezi ale competenței lor tehnice (de ex: demonstrează că sunt acreditați);

Referința la unitățile SI: Lanțul de comparări trebuie, unde este posibil, să se finalizeze la etaloanele primare pentru realizarea unităților SI;

Intervalele de etalonare: Etalonările trebuie să fie repetate la intervale de timp adecvate; durata acestor intervale va depinde de mai multe variabile (de ex: incertitudinea solicitată, frecvența de utilizare, modul de utilizare, stabilitatea echipamentului).

Material de referință certificat (MRC) - material de referință însoțit de un certificat, ale cărui, una sau mai multe, valori ale proprietății (proprietăților) sale este (sunt) certificate printr-o procedura care stabileşte trasabilitatea la o realizare exacta a unității (unităților) în care sunt exprimate valorile proprietății (proprietăților) şi pentru care fiecare valoare certificată este însoțită de o incertitudine la un nivel de încredere indicat.

Etalon - măsură, aparat de măsurat, material de referință sau sistem de măsurare destinat a defini, realiza, conserva sau reproduce o unitate sau una sau mai multe valori ale unei mărimi pentru a servi ca referință.

4. POLITICA

RENAR recunoaşte certificatele[1] de etalonare emise de:
- Institutul Național de Metrologie din România;
- institute naționale de metrologie, semnatare CIPM-MRA;
- laboratoare de etalonare sub acreditarea RENAR;
- laboratoare de etalonare sub acreditări ale unor organisme de acreditare semnatare EA-MLA sau ILAC-MRA sau acord bilateral cu EA;
- laboratoare aparținând BRML.

Acolo unde nu este tehnic posibil sau rezonabil pentru a fi asigurată trasabilitatea, laboratorul va utiliza materiale de referință certificate furnizate de către un furnizor competent sau va utiliza metode specificate şi/sau etaloane de consens[2], care sunt descrise clar şi convenite de acesta cu toate părțile în cauză.

RENAR solicită laboratoarelor de etalonări/încercări să aibă politici şi proceduri adecvate, în conformitate cu recomandările ILAC-G24, pentru stabilirea şi ajustarea intervalelor dintre două etalonări succesive a echipamentelor de măsurare şi etaloanelor de referință.

5. MODIFICĂRI FAȚĂ DE VERSIUNEA ANTERIOARĂ

Această politică este ediție nouă.

[1] în unele cazuri documentul poate fi denumit „raport de etalonare”

[2] Etalon de consens = conform SR EN ISO/CEI 17025:2005, pct. 5.6.2.1.2 şi pct. 5.6.2.2.2, acesta este un etalon agreat prin consens de părțile interesate. De ex: material de referință, mostră, componentă a unui echipament, set de date, atlas (ex. citologie), etc.

Spitalul Clinic de Boli Infecţioase"Sf.Parascheva„ Iaşi
Laboratorul de analize medicale
Str.Octav Botez Nr 2

PROCEDURA SPECIFICĂ

DETERMINARI DE HEMOLEUCOGRAMA

Cod: PSL - 01

LABORATORUL DE ANALIZE MEDICALE

STANDARD DE REFERINTA: SR EN ISO15189: 2007

EDITIA: 1
REVIZIA: 0
Data: 01.03.2011

DIFUZAT IN REGIM CONTROLAT: EXEMPLAR Nr.

DESTINATAR :……

APROBAT	**VERIFICAT**
Manager	**Manager Calitate**
Prof.Dr. Carmen Dorobăţ	**Dr. Diana Matei**

Elaborat:

Manager Tehnic	**Şef Compartiment Laborator Hematologie/ Imunhematologie**
Dr. Rodica Fântânaru	**D-na Dr. Denisa COVACIUC**

Data aprobarii : 01.03.2011
Data aplicarii : 15.03.2011

Avertisment : Documentul de fata este proprietatea **Spitalul Clinic de Boli Infecţioase"Sf.Parascheva„ Iaşi** - Laborator de analize medicale.
Reproducerea si difuzarea documentului sunt in exclusivitate dreptul societatii. Copiile sunt numerotate si controlate.

LISTA DE DIFUZARE / RETRAGERE

Locul difuzării	Primit				Retras			
	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură
R. C	0.	01.03. 2011	Dr. Diana Matei					
Manager General	1.	01.03. 2011	Prof.Dr. Carmen Dorobăţ					
Manager Tehnic		01.03. 2011	Dr. Rodica Fântânaru					
R. C	2.	01.03. 2011	Dr. Diana Matei					
Şef Compartiment Laborator Hematologie/ Imunhematologie	3.	01.03. 2011	Dr. Denisa Covaciuc					
RENAR	4.	01.03.2011	Ing. Cristian Nichita					

INDICATORUL REVIZIILOR

Nr. Crt	Data	Editia/ revizia	Identificari modificare Capitol, subcapitol, pagina modificata, continut modificari	Functia si semnatura		
				Elaborat	Verificat	Aprobat
1	01.03. 2011	Ed. 1/ Rev. 0/	Elaborat PSL -01, in editia 1, revizia 0	Manager Tehnic Dr. Rodica Fântânaru Şef Compartiment Laborator Hematologie/ Imunhematologie Dr. Denisa Covaciuc	Managerul Calitatii Dr. Diana Matei	Manager Prof.Dr. Carmen Dorobăţ

1. SCOP ŞI DOMENIU DE APLICARE

Procedura se aplică în cadrul compartimentului de hematologie, în vederea determinării a 24 parametrii ai hemoleucogramei automate.
Analizorul foloseşte sânge integral, venos sau capilar, recoltat pe K_3 EDTA permiţând prin rezultatele furnizate, elaborarea unui diagnostic clinic pozitiv, diferenţial cât şi evaluarea evoluţiei în dinamică, sub terapie, a bolnavilor investigaţi. Proba de sânge recoltată în punctele de recoltare stabilite, este preluată, verificată, numerotată în registrul Laboratorului. Este transmisă apoi pentru analiză în compartimentul de hematologie.

2. DOCUMENTE DE REFERINŢĂ

2.1. SR EN ISO 15189: 207-Laboratoare medicale.Cerinţe particulare pentru calitate şi competenţă .
2.2. SR EN ISO/TR 22869-Laboratoare medicale.Ghidul pentru implementare în laboratoare a ISO 15189:2003
2.3. SR EN 15190:2005-Laboratoare medicale.Cerinţe pentru securitare.
2.4. Manualul calităţii Laboratorului cod: MCL-01, Ed.1,Rev.0/.
2.5. Manualul de operare al analizorului Sysmex XS-1000i elaborat de Sysmex Corporation, Kobe, Japan 2005
2.6. Păun, R.,,Tratat de medicină internă Hematologie '', Ed.Medicală, Bucureşti 1997
2.7. Manole,G.H. ,, Analize de laborator" Ed.Coresi 2004
2.8. Kondi,V. ,, Laborator clinic-Hematologie'' Ed. Medicala 1981
2.9. Prospect sânge de control
2.10. Manualul de recoltare a probelor biologice, cod:PGL-5.4-1, Ed.1, Rev.0/.
2.11. Balcells,Al.,, Examens de laboratoire pour le practicien'' 1998 Masson, Paris

3. DEFINIŢII ŞI ABREVIERI

3.1. DEFINŢII

3.1.1. Hemoleucogramă automată - o baterie de teste hematologice compusă din doua seturi de bază: numărătoarea completă a celulelor din sânge şi numărătoarea diferenţiată a leucocitelor.
3.1.2. Reproductibilitatea se bazează pe măsurători din aceeaşi probă de sânge integral, proaspăt, fără alarme.
3.1.3. Calibrare - set de operaţii care stabileşte în condiţii specificate relaţia dintre valorile indicate de instrumentul de măsurare şi valorile corespunză-
toare concentraţiei unui analit.
3.1.4. Conformitate - îndeplinirea de către un produs, proces sau serviciu a unor cerinţe specificate.
3.1.5. Control intern de calitate- tehnici şi activităţi operaţionale din cadrul unui laborator care sunt folosite pentru a îndeplini cerinţele calităţii.
Monitorizează procesul de verificare a siguranţei măsurătorilor şi cel de eliminare a neconformităţilor.
3.1.6. Evaluarea externă a calităţii - determinarea performanţei măsurătorilor efectuate în laborator cu ajutorul comparării inter-laboratoare.
3.1.7. Analiză de laborator - determinarea uneia sau mai multor caracteristici ale unei probe în conformitate cu o procedură.

3.1.8. Metoda de referinţă - o metodă descrisă tehnic clar şi exact pentru un analit care şi-a dovedit suficientă acurateţe şi precizie în determinările de laborator şi care poate fi folosită pentru a evalua validitatea altor metode de măsurare şi caracterizarea materialelor de referinţă.
3.1.9. Acurateţea - apropierea dintre rezultatul unui test şi valoarea de referinţă acceptată.
3.1.10. Limita de detecţie - rezultat singular minim care cu o anumită probabilitate poate fi diferenţiat de valoarea blancului.
3.1.11. Linearitate - interval de concentraţie în care intensitatea semnalului obţinut este direct proporţional cu concentraţia substanţei care a produs semnalul.
3.1.12. Precizie - apropierea dintre rezultatele independente ale măsurătorilor obţinute în condiţii specificate.
3.1.13. Proba - unul sau mai multe eşantioane luate dintrun sistem şi destinate obţinerii de informaţii cu privire la întregul sistem.
3.1.14. Probă de laborator - probă primară sau sub-probă preparată pentru a fi trimisă/primită în laborator pentru a fi măsurată.
3.1.15. Test - operaţiune tehnică constând în determinarea uneia sau mai multor caracteristici ale unui produs, proces, serviciu în concordanţă cu o anumită procedură.
3.1.16. Validare - confirmare, prin examinarea şi prezentarea dovezilor obiective a faptului că sunt îndeplinite cerinţele particulare ale une utilizari specifice propuse.
3.1.17. Trasabilitate - o proprietate atribuită unui rezultat, test sau valoare măsurată care poate fi raportată la o referinţă fixată, deobicei standarde naţionale sau internaţionale, printro serie continuă de determinări ale cărei incertitudini sunt cunoscute.
3.1.18. Incertitudine de măsurare - estimaţie caracterizând intervalul de valori în interiorul căruia se găseşte valoarea adevărată a măsurandului.
3.1.19 Limitele intervalului de valori - interval care cu o anumită probabilitate include valoarea adevarată a măsurandului .

3.2. ABREVIERI

HLG - hemoleucograma
WBC - (white blood cells) –leucocite
RBC – (red blood cells) – eritrocite/hematii
HGB – hemoglobină
HCT – hematocrit
MCV - (medium cell volume)-volum eritrocitar mediu/VEM
MCH - (medium cell hemoglobin)-hemoglobină eritrocitară medie/HEM
MCHC - (medium cell hemoglobin concentration)-concentraţie în HGB eritrocitară medie/CHEM
PLT – platelet-plachete/trombocite
MPV - volum plachetar mediu
P-LCR – (platelet large cell ratio)-proporţia de macroplachete din totalul de plachete
PCT - plachetocrit
NEUT - neutrofile
EO - eosinofile
MONO - monocite
BASO - bazofile
LYMPH - limfocite
RDW (red cell distribution width)- variaţia distribuţiei eritrocitelor

PDW (platelet distribution width)- variaţia distribuţiei plachetelor
FL –formulă leucocitară
Fe - fier

4. DESCRIEREA PROCEDURII

SEMNIFICAŢIE CLINICO-BIOLOGICĂ

Hemoleucograma reuneşte informaţia privitoare la populaţiile de eritrocite, leucocite, trombocite oferită de un analizor automat.
Prin măsurarea de elemente celulare din sângele periferic se obţin date importante întrun timp foarte scurt despre numărul, tipul, dimensiunea şi forma celulelor. Deşi în majoritatea cazurilor aceste măsurători sunt exacte pot exista şi situaţii (limite de sistem) în care valorile redate să înregistreze anomalii.

În astfel de cazuri se execută frotiul de sânge periferic şi se examinează la microscopul optic pentru aprecieri semicantitative, detalii morfologice, de tinctorialitate precum şi detecţia de celule anormale.

4.1 PRINCIPIUL METODEI

4.1.1. Analizorul Sysmex XS - 1000i seria 62269
Este un analizor automat de hematologie dotat cu tehnologie 5Diff destinat laboratoarelor clinice. Analizează şi afişează rezultatele pentru 24 de parametri hematologici ai probei de sânge venos sau capilar.

În funcţie de modalităţile de determinare aceştia se împart în :
a) parametri măsuraţi direct:
- HGB – prin metoda spectrofotometrică fără cianuri – SLS -
- WBC , RBC, PLT – prin metoda impedanţei
- MCV, MPV – prin calcul (suma volumelor celulelor/numar total de celule)
- RDW, PDW – prin aprecierea coeficientului de variaţie al marimii eritrocitelor respectiv plachetelor.

b) parametri măsuraţi indirect:
-HCT =RBC × MCV/10
-MCH =HGB × 10/RBC
-MCHC = HGB × 100/HCT

c) parametri evaluaţi prin măsurarea dimensiunilor, densităţii optice, a refracţiei şi absorbţiei :
LYMPH: 35-90 fl ; EO , MONO, BASO- 90-160 fl ; NEUT >160 fl

4.1.2. Principiile detecţiei

Acest instrument efectueaza analize hematologice conform cu focusarea hidrodinamică (impedanţa), metoda citometriei în flux (utilizand un laser cu semiconductor) şi metoda SLS - hemoglobină.

a) Metoda focusării hidrodinamice (impedanţa)

În interiorul detectorului,''sample nozzle'' este poziţionat în faţa aperturii în poziţie centrală. Proba diluată este trimisă forţat în camera conică, înconjurată de o teaca frontală de reactiv şi dirijată către centrul aperturii, traversând-o apoi la tubul de fixare. Deoarece celulele sanguine trec linear prin apertură se previne generarea de " pulsuri'' false de către acestea. Se îmbunătăţeşte astfel acurateţea şi reproductibilitatea numărătorii celulelor.

b) Metoda citometriei în flux cu laser semiconductor

Citometria este folosită pentru a analiza caracteristicile fiziologice şi chimice ale celulelor.
O probă de sânge este aspirată , măsurată şi diluată întrun raport specific şi colorată.Proba este trimisă în celula de flux.O rază laser este emisă către celulele sanguine şi trece prin celula de flux.Lumina refractată în faţă şi lateral este captată de o fotodiodă şi lumina fuorescentă laterală este captată de un tub fotomultiplicator şi convertită în ''pulsuri '' electice aducând informaţii despre celulele sanguine.

c) Metoda cu SLS - hemoglobină

Metoda îmbină avantajele a două metode anterioare: cu cianmethemoglobină şi oxihemoglobină.Viteza de conversie a HGB este mare şi nu foloseşte substanţe toxice fiind adecvată sistemelor automate de determinare. Membrana eritrocitelor este lizată de surfactanţi cu eliberare de HGB.Globina din structura HGB este modificată prin acţiunea grupării alchilhidrofile a SLS ducând la conversia HGB din stare feroasă (Fe^{2+}) în stare ferică (Fe^{3+}) cu formarea methemoglobinei care se combină cu SLS şi formează SLS –HGB .

4.2. RESURSE NECESARE

4.2.1. Echipamente şi accesorii. Descriere şi funcţii .

Vedere de ansamblu asupra aparatului.
Analizorul Sysmex XS-1000i are în configuraţie următoarele componente principale:
- Unitatea principală XS-1000i ce analizează probele şi controalele.
-Unitatea de procesare a informaţiei (I.P.U.): procesează datele generate de echipamentul de măsură.
- Imprimanta de pagini.
- Dispozitiv pentru încărcarea automată a probelor : dirijează automat probele către unitatea principală (alimentator de probe).

4.2.2. Intervale de referinţă .

Intervalele de referinţă pentru populaţia normală au fost stabilite pe baza unor probe recoltate de la subiecţi normali.
Intervalele pentru fiecare parametru este calculat folosind un interval de încredere 95 % .

Parametru	Interval pentru femei	Interval pentru bărbaţi	Unitate
WBC	3,98-10,04	4,23-9,07	$\times 10^3/\mu l$
NEUT	34,0-71,1	34,0-67,9	%
LYMPH	19,3-53,5	21,8-57,0	%

MONO	4,7-12,5	5,3-12,2	%
EO	0,7-4,0	0,8-4,0	%
BASO	0,1-1,2	0,2-1,2	%
NEUT	1,56-6,13	1,78-5,38	$\times 10^3 \mu l$
LYMPH	1,18-3,74	1,32-3,57	$\times 10^3 \mu l$
MONO	0,24-0,36	0,30-0,82	$\times 10^3 \mu l$
EO	0,04-0,36	0,04-0,54	$\times 10^3 \mu l$
BASO	0,01-0,08	0,01-0,08	$\times 10^3 \mu l$
RBC	3,93-5,22	4,63-6,08	$\times 10^6 \mu l$
HGB	11,2-15,7	13,7-17,5	g/dl
HCT	34,1-44,9	40,1-51,0	%
MCV	79,4-94,8	79,0-92,0	fl
MCH	25,6-32,2	25,7-32,2	pg
MCHC	32,2-35,5	32,3-36,5	g/dl
RDW-CV	11,7-14,4	11,6-14,4	%
RDW-SD	36,4-46,3	35,1-43,9	fl
PLT	182-369	163-337	$\times 10^3 \mu l$

Valori normale ale E , HGB, HCT la diverse vârste

Vârstă	E $\times 10^6 \mu l$	HGB g /dl	HCT %
1-5 zile	5,1 ± 1,0	17,3 ± 4.0	49,0 ± 10
16 zile-6 luni	4,5 ± 0,7	12,2 ± 2,3	36,0 ± 6,0
6 luni-12 luni	4,6 ± 0,7	11,8 ± 2,3	35,0 ± 5,0
1 an-3 ani	4,5	12,5	36
4 ani-10 ani	4,7	12,9	38
11 ani-15 ani	4,8	13,4	39

Formula leucocitară şi numărul de leucocite în funcţie de vârstă după J. Bernard

Nr. Leucocite $\times 10^3/\mu l$	Nou-născut	9 luni	3 ani	10 ani	Adult
	10-20	4-12	4-10	5-10	5-10
NEUT %	60-70	25-40	30-35	45-60	50-70
EO %	1-2	1-4	1-4	1-4	1-4
BASO %	0,4	0,2	0,1	0,1	0,1
LYMPH %	20-25	50-70	45-60	40-50	30-45
MONO	12	8	6	6	6
MIELOCITE	0,5	0	0	0	0

4.2.3. REACTIVI ŞI MATERIALE DE REFERINŢĂ

Achiziţionarea şi recepţia reactivilor şi materialelor de referinţă se fac conform procedurii generale PGL- 4.6,, Servicii externe şi aprovizionare''. Responsabilul de analiză verifică îndeplinirea specificaţiilor tehnice şi termenele de valabilitate, apoi le înregistrează în formularul de evidenţă a reactivilor, cod FGL – 4.6 - 04, Ed. 1.
Reactivii utilizati pentru analizorul Sysmex XS-1000i seria: 62269.

a) Cellpack : diluent pentru analizoare hematologice. Se utilizează până la data expirării înscrisă pe cutie sau după deschidere 60 de zile la temperatura +5- 30°C .
Ingrediente active: Clorură de sodiu 0,64 %
Acid boric 0,10 %
Tetraborat de sodiu 0,02 %
EDTA 2 K 0,002
Condiţionat în bidoane de 20l.

b) Stromatolyser -4DL : diluent pentru analizoarele de hematologie Sysmex
Ingrediente active: Surfactant nonionic 0,018
Sare organică cuaternară de amoniu 0,08 %
Condiţionat în flacoane de 2 l.

c) Stromatolyser -4DS– se utilizrează pentru colorarea leucocitelor din probe-
le diluate şi lizate în prealabil. Serveşte la determinarea numărătorii 5 Diff (Lymph, MONO, NEUT, EO, BASO)
Ingrediente active: Polimethine dye 0,002
Metanol 3,00%
Etilenglicol 96.90 %
Condiţionat în plicuri de 42 ml .

d) Sulfolyser: reactiv fără cianuri utilizat pentru măsurarea HGB.
Realizează lizarea eritrocitelor şi acţionează asupra globinei pentru a forma un hemocrom stabil.

Ingrediente : Sodiu lauril sulfat 0,17 %
Condiţionat în flacoane brune de 500 ml .

4.2.4. RESURSE UMANE

-medic primar laborator clinic şi microbiologie
-asistent principal laborator clinic

4.2.4.1 Măsuri de protecţie a personalului

Toate produsele biologice sunt tratate ca şi cum ar fi potenţial infectate şi manipulate cu respectarea următoarelor reguli de bioprotecţie:
-intrarea controlată: majoritatea bacteriilor manipulate în acest laborator sunt patogene pentru om.
-purtarea echipamentului de protecţie în spaţiul de lucru (halat, manuşi pe durata lucrului). La ieşire echipamentul se abandonează în spaţiul de risc.
-nu se pune nimic în gură; este interzis a bea, mânca , fuma.

-nu se pun obiecte personale pe masa de lucru.
-decontaminarea suprafeţelor de lucru cu soluţii dezinfectante avizate este obligatorie la încheierea lucrului.
-se vor citi cu multă atenţie informaţiile referitoare la reactivii toxici sau cu risc biologic specificate în prospectul de lucru al reactivului.
-a se spăla cu apă şi săpun ori de căte ori este nevoie şi la sfărşitul programu-
lui de lucru. Nu se lucrează cu leziuni cutanate neprotejate : se folosesc comprese şi bandaje sterile impermeabile.

4.2.5. a. MODUL DE LUCRU

Analizoarele Sysmex au fost proiectate pentru a produce radiaţii electromagnetice sub limita admisibilă.

Interferenţele electromagnetice cu analizoarele sunt limitate la nivelul funcţionării corecte a altor instrumente, în conformitate cu destinaţia lor .
Temperatură şi umiditate: analizoarele Sysmex pot funcţiona între 18-32 °C cu o umiditate relativa de maxim 85 % fără condens.

4.3.a Produsul biologic analizat

Probele de sânge sunt recoltate conform procedurii operaţionale PO-06 ,,Manual de recoltare a probelor biologice'', prin puncţie venoasă sau capilară, pe vacutainere de 2 ml cu dop mov cu anticoagulant K_3 EDTA , respectiv microtainere K_3 EDTA cu tubi capilari, după completarea formularelor de solicitare analize medicale .
Specimenele pot fi păstrate la temperatura camerii 6-8 ore şi 24 ore la frigider fără să se modifice numărul de eritrocite, leucocite, trombocite cât şi valoarea HGB.

4.3.1.a. Condiţii de utilizare

Se utilizează numai sânge uman sau artificial de control.
Orice altă utilizare este considerată nonspecifică.
Se permit pentru utilizare numai reactivii şi soluţiile menţionate în manualul de instrucţiuni de folosire emis de firma producătoare Sysmex .

4.4.a. Descrierea activitaţii

4.4.1.a. Operaţiuni pregătitoare.
Recepţionarea probelor biologice are loc în intervalul..... şi în timpul contravizitei (pentru analize medicale de urgenţă).Vacutainerele cu dop mov recoltate în punctele de recoltare (pavilioanele Spitalului, Laborator) sunt transportate la Laborator în poziţie verticală, însoţite de formularul de solicitate analize, cod FGL- 4.4 - 02
Precauţii standard: toate probele de sânge sunt considerate potenţial infecţioase şi manevrate în consecinţă în conformitate cu legislaţia în vigoare naţională şi internaţională.
Verificarea cantitativă şi calitativă a probelor de sânge şi înregistrarea solicitărilor în registrele de evidenţă a comenzilor(interne , externe, respinse) se fac conform procedurii generale PGL 4.4 ,,Analiza comenzii şi contractelor''.

Criterii pentru respingerea unei probe de sânge:

-identificare necorespunzătoare a vacutainerului
-volum de sânge inadecvat
-prezenţa de coaguli în probă sau coagulată complet
-transport sau stocare necorespunzătoare

Atunci când proba nu corespunde cantitativ sau calitativ, persoana responsabilă cu verificarea şi înregistrarea probelor de la camera de receptură anunţă telefonic asistentul medical de necesitatea repetării recoltării .

Probele de sânge care întrunesc criteriile de acceptare, inscripţionate cu ID-ul unic şi formularele de solicitare respective sunt preluate de asistenta de laborator din camera de receptură, transferate în compartimentul de hematologie şi înregistrate în registrul de lucru pentru hemoleucograme, cod RGL- 4.4 -01.

Verificările înaintea pornirii analizorului sunt efectuate de medicul responsabil de analiză şi constau în :

a) verificarea reactivilor : instrumentul se opreşte automat când un reactiv se termină în timpul lucrului, se înlocuieşte acest reactiv, se porneşte lucrul.

Date orientative pentru numărul de probe ce pot fi analizate/container de reactiv şi volume/probă consumate.
Cellpack -20 l –aprox. 570 probe; aprox 36 ml/probă
Stromatolyser -4DL -2 l – aprox. 1000 probe; aprox.2 ml/probă
Stromatolyster -4DS -42 ml- aprox.1000 probe; aprox. 0,03 ml/probă
Sulfoliser -500ml –aprox.1000 probe; aprox. 0,5ml/probă

b) verificarea instrumentului: se verifică conexiunile tuburilor şi cablurilor;
dacă tubulatura nu este îndoită, înnodată , dacă este conectat la reţeaua electrică.

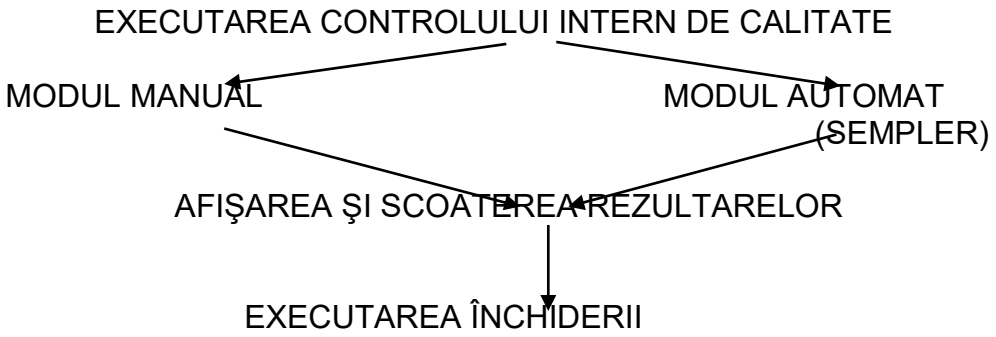
c) verificarea containerului de deşeuri lichide şi golirea acestuia la nevoie.
d) verificarea hârtiei din imprimantă şi completarea corespunzatoare

4.4.2. Vedere de ansamblu a operării

Analizorul hematologic Sysmex XS-1000i cuprinde o I.P.U. (unitate de procesare a informaţiei) pentru procesarea datelor, o unitate centrală pentru măsurători şi o imprimantă.

Responsabilul de analiză porneşte în ordine imprimanta, I.P.U., unitatea centrală. După pornire se urmează secvenţa operaţiilor de mai jos pentru efectuarea controlului intern de calitate, analizelor, scoaterea rezultatelor şi apoi oprirea alimentării.

PORNIRE



4.4.3.a. VEDERE DE ANSAMBLU A ECRANELOR

a) Titlul. Afişează nivelul din meniu.
b) Bara de meniu. Pentru fiecare meniu există submeniuri.
La apăsarea butonului stânga a mouse-lui poziţionat pe denumirea unui meniu se afişează desfăşurat lista de submeniuri.
c) Bara de unelte. Butoanele situate imediat sub bara de meniu sunt unelte.
Itemurile comune tuturor ecranelor sunt alocate butoanelor F_1 - F_8 .
d)Tab.Tab-urile pot fi afişate întro fereastră .Pot fi selectate pentru a schimba conţinutul afişat întro fereastră.
e) Zona de ferestre. Arie pentru efectuarea proceselor şi operaţiunilor de bază.
f) Casetele de dialog. Acestea pot fi afişate în cadrul unei ferestre active pentru a-l consulta pe utilizator pentru o decizie sau o confirmare.
g) Bara de afişare a stării sistemului.

Bară afişată în subsolul ariei de ferestre. Afişează starea unităţii centrale, numărul probei,tipul analizei.

4.4.4.a. Descrierea activităţii de efectuare a HLG automate pe analizorul Sysmex XS-1000i .

Prin deschiderea unităţii centrale se efectuiază următoarele operaţiuni: auto-
test, descărcarea programului de control al unităţii principale, iniţializarea părţilor mecanice şi hidraulice, secvenţa de spălare, stabilizarea temperaturii,
verificarea pe gol (background check).
Lucrul începe după ce temperatura internă a aparatului atinge valoarea necesară.Temperaturile camerei de reacţie şi încălzitorului de reactiv sunt afişate în caseta de dialog ,,Temperature monitoring''când temperatura s-a stabilizat caseta se închide automat.

Programul începe cu efectarea controlului intern de calitate cu sânge de control pe 3 nivele de valori L_1 ,L_2 ,L_3 livrat de firma producătoare.
Se scoate din frigider, se aduce la temperatura camerei, se omogenizează prin mişcări de rotaţie şi răsturnare.
Se selectează în meniul aparatului ,, Q S ''program. Se deschide lista fişierului ,,Q S File ''.
Se selectează cu click stânga nivelul analizat; se selectează ,,Modul manual ''
Se deschide flaconul, se poziţionează în tubul adaptor. Se dă click ,,OK'' şi se apasă butonul ,,START''.

Rezultatele se vor afişa automat în caseta de dialog. Dacă nu există nici o atenţionare (alarmă) se dă click ,,ACCEPT ''şi rezultatele se vor înregistra în harta ,,Q S ''. Se procedează similar pentru cele 3 nivele.

Controlul calitaţii asigură corectitudinea datelor comunicate.
Permite monitorizarea pe termen lung a stabilităţii valorilor analizate.
Poate să identifice precoce diferite probleme şi să le prevină. Controlul calităţii se execută înainte de analizarea probelor, cel puţin o dată la 8 ore de lucru, după operaţii de întreţinere, după înlocuirea unui reactiv, când precizia datelor analizate este îndoielnică.
Analizarea probelor se poare realiza în modul manual şi automat.
Analiza în modul manual .
Analiza se poate efectua când unitatea centrală este gata (spot verde), capacul este ridicat.
Cu mouse-ul se selectează pictograma ,,Manual mode'' din ecranul
,,Controller''; dublu click pentru a lansa ecranul ,,Manual mode ''.
Ecranul poate fi lansat şi cu butonul ,,Manual '' din bara de unelte sau tasta F_2 .

Se înregistrează datele de identificare ale pacientului pe câmpurile afişate: numărul probei din registrul de evidenţă primară, nume, prenume pacient, pavilion, numărul foii de observaţie.
Proba se agită, se deschide, se pozitionează în tubul adaptor potrivit.

Se urmăreşte led-ul situat în bara de jos a ecranului să fie gata de aspirare, se dă click ,,OK'' şi se apasă butonul ,,START '' .

După analizare rezultatele se imprimă, proba se închide şi se păstrează 24 ore la frigider.
Analiza în modul automat(sempler) .

În acest mod de lucru agitarea, aspirarea, analiza probei sunt efectuate automat.
Capacul sempler-lui este închis.
Dacă acesta este deschis se activează întrerupătorul de analiză şi programul se întrerupe printro avertizare sonoră şi un mesaj scriptic.
Se verifică cu atenţie starea etichetelor de pe vacutainere să nu fie încreţite,
multiple, exfoliate pentru ca vacutainerele să fie uşor ridicate şi aduse înapoi în rack. Se lucrează 20 de probe instalate în rack .

Se selectează din bara de unelte ,,Work list '' apoi ,,Register ''pentru înregistrarea datelor pacienţilor conform câmpurilor afişate : numărul probei
din registrul de evidenţă primară, numărul rack, numărul tubului, tipul de analiză, ,,CBS+Diff '' , numărul foii de observaţie, nume, prenume pacient, vârsta, mediul de provenienţă, sex, pavilion.
După fiecare pacient se dă click ,,ADD NEXT ''şi la ultimul ,,OK''asigurân-
du-se succesiunea înregistrării.
Se instalează vacutainerele în rack, se verifică corectitudinea ordinii de la 1 -10 a rack 1 şi rack 2 .
Se aşează rackii în sempler. Se închide capacul.
Se selectează din bara de unelte ,,sempler '', apare un nou ecran în care se înscrie numărul de ordine al primei probe, se confirmă şi numărul rack-ului, numărul probei se dă ,,OK'' şi se apasă butonul ,,START'' plasat pe sempler.
Rezultatul analizelor vor fi imprimate succesiv pe parcursul a aproximativ 20 minute.
Un semnal sonor avertizează finalul analizelor; în caseta de dialog afişată se dă click pe ,,OK''.

Vacutainerele se păstrează la frigider 24 ore.

4.4.5.a. Închiderea analizorului.

Când este efectuată închiderea, linia de diluţie şi detectorul sunt curate.
Se trece instrumentul printrun ciclu de închidere la sfârşitul fiecărei zile de lucru .
Procedura de închidere a analizorului este :
- se apasă butonul,,Controller'' din ecranul meniu, sau dublu click pe pictograma ,,Shut Down '',se deschide caseta de dialog ,,Shut Down ''.
- se confirmă ,,Execute''urmând un ciclu de spălări de 2 minute.
- se închide butonul analizorului.
- se inchide I.P.U.
- se apasă butonul ,,Start'' din bara de jos a ecranului,se selectează ,,Shut Down'' din caseta de dialog realizându-se operaţiunea de închidere a programului.
-se închide imprimanta.

4.5.a. Calibrarea

Acest proces se efectuează pentru a compensa orice inadvertenţă apărută în sistem. Analizorul Sysmex XS-1000i îşi determină automat valoarea de calibrare prin programul de deschidere zilnică. Calibrarea iniţială este realizată de reprezentantul de service autorizat de la firma furnizoare a aparatului.
Orice eroare semnalată de controalele interne sau externe este anunţată inginerului de service autorizat care va acţiona specific.

4.6.a. Curăţare.Întreţinere.

Acest instrument necesită întreţinere regulată pentru a-şi păstra cea mai bună condiţie. Desfăşurarea acestei activităţi se înregistrează în fişa de înregistrare a mentenanţei ,cod:FGL - 5.3 -03, Ed.1,Rev.0/.

Întreţinerea zilnică : se realizează prin procesul de deschidere/închidere.
Întreţinerea lunară: se realizează prin spălare cu soluţie Cellclean livrată în flacoane de 10 ml pe baza referatului de necesitate.
-se repartizează 3 ml soluţie întrun vacutainer.
-se lucrează în modul manual urmărind indicaţiile căsuţei de dialog pe parcursul a 15 minute.

Întreţinere la nevoie: se înlocuieşte containerul de deşeuri lichide, se execută clătirea automată ,curăţarea camerei de deşeuri, eliminarea bulelor din celula de flux, golirea camerei de reacţie, eliminarea cheagurilor din detectorul RBC, curăţarea aperturii detectorului RBC .

Înlocuirea consumabilelor : se execută de responsabilul de analiză.
Înlocuirea acului de aspirare, a siguranţelor, a pompei de aer sunt operaţii ce aparţin reprezentantului firmei de service.
Înlocuirea reactivilor este executată de operator :

- instrumentul se opreşte automat după ce ultima analiză este completă.

- se deschide caseta de dialog ,,Help ''.
- se înlocuieşte reactivul indicat cu unul nou înserând parametrii în câmpurile casetei de dialog ,,Reagents replecement ''(volum, numărul lotului,data expirării).
- se dă click pe butonul ,,Execute ''.

Această secvenţă de înlocuire este comună tuturor reactivilor specifici instrumentului.

4.7.a. Controlul intern de calitate şi validarea metodei .

Calitatea rezultatelor obţinute în laboratorul de analize medicale-compartimentul hematologie-depinde de mai mulţi factori :

a) Metoda analitică potrivită ca specificitate clinică, acurateţe, limită de detecţie, interval analitic. Producătorii analizorului Sysmex XS-1000i asigură, prin recunoaşterea în domeniu a performanţelor tehnologice a acestui echipament, valoarea diagnostică şi precizia celor 24 de parametri hematologici comunicaţi.

b) Reactivii utilizaţi sunt specifici acestui tip de analizor, sunt gata pregătiţi astfel nu mai intervine factorul uman în preparare, au stabilitate specificată în prospectul de folosire. Au certificat de calitate şi sunt stabili în flacoane închise şi deschise.

c) Sângele de control intern posedă certificat de calitate asigurând trasabi-litatea măsurătorilor.

Laboratorul face dovada efectuării acestui control pe trei nivele L_1 , L_2 , L_3 în condiţiile menţionate anterior, prin dosarul de control intern al analizorului Symex împreună cu hărţile de control .

Dosarul cu informaţii al analizorului cuprinde copii xerox după toate fişele de service (operaţiuni de mentenanţă, reparaţii ,verificări).

d) Compartimentul de hematologie este înscris cu hemoleucograma automată executată pe Sysmex XS-1000i la un program de supraveghere internaţională a calităţii.

Sunt urmăriţi următorii parametrii: HGB, HT, RBC, WBC, MCV, MCH, MCHC, PLT.

Laboratoarele Randox din United Kingdom au elaborat o schemă RIQAS cu cicluri de probe de testat care sunt analizate conform prospectului furnizat de firmă.

Rezultatele proprii Laboratorului au fost comparabile cu cele ale mediei, încadrându-se în limitele de variaţie admise.

Acestea sunt incluse în dosarul de control extern . Certificatul de control al calităţii RIQAS este afişat la nivelul compartimentului.

e) Analizorul Sysmex XS -1000i furnizează pe lângă valorile numerice ale diferitelor celule, indici şi constante eritrocitare, variaţiile de distribuţie celulară şi HISTOGRAME pentru eritrocite, leucocite, plachete.

Ele conţin informaţii utile operatorului privind controlul calităţii rezultatelor elaborate şi promovarea investigaţiilor ulterioare (citologia frotiului sanguin, reticulocite, citochimie).

4.8.a. Valoarea Clinică A HLG Automate

Întrucât metodele manuale,tradiţionale de numărate a celulelor sanguine sunt întro oarecare măsură imprecise,necesită timp şi muncă intensivă, dezvoltarea liniilor de cercetare şi producţie a analizorilor hematologici automaţi a devenit o necesitate imperioasă.

Aceste instrumente moderne realizează măsurători pe un număr foarte mare de celule (10.000 fată de 100-200 în metodele clasice)furnizând rezultate statistic semnificative ,cu înalt nivel de exactitate.
Analizorul Sysmex XS-1000i este un echipament de ultimă generaţie, performant, beneficiind de progresul tehnologic actual, oferind clinicianului informaţii multiple şi sigure cu condiţia ca probele să fie corect recoltate, validate, procesate, analizorul să fie bine întreţinut, operatorii instruiţi şi martorii de calitate corespunzători.

4.9.a. ACTIVITĂŢI FINALE

Rezultatele imprimate sunt analizate de responsabilul de analiză , parafate, codificate, triate pentru eventualele investigaţii ulterioare.

4.10.a. REZULTATE ŞI INTERPRETARE

Parametru	Valori de panică	
	Joase	Înalte
Nr.LEUCOCITE $\times 10^3/\mu l$	<2,0	>20
Nr.ERITROCITE $\times 10^6/\mu l$	<2,0	
HEMOGLOBINĂ g/dl	<7,0	
HEMATOCRIT %	<18,0	>60
MCV fl	<65	>120
Nr.TROMBOCITE$\times 10^3/\mu l$	<50	>900
GRANULOCITE $\times 10^3/\mu l$	<1,0 pt. un.nr.L < 4,0	
LIMFOCITE %		>70
MONOCITE %		>25
BLAŞTI		>5

O importantă componentă a asigurării calităţii informaţiilor furnizate de HLG automată o reprezintă examinarea citologiei frotiului de sânge periferic de către medicul de laborator în conformitate cu procedura specifică PSL- 01 ,,Citologia frotiului sanguin''.

Când instrumentul semnalizează anumite modificări,operatorul verifică datele şi asistentul întinde, colorează frotiurile şi le prezintă medicului.
De regulă eozinofilia > $0,7\times 10^3/\mu l$ sau 20 % , monocitoza >10 % sau>1000/ µl , leucocitoza $>20\times 10^3/$ µl , anemia, microcitoza, celulele atipice, limfoplasmocitele, trombocitopenia$<50\times 10^3/$ µl, trombocitoza impun examenul morfologic complet pentru verificarea veridicităţii numărătorii automate.

4.11.a.Variaţiile Patologice Ale Parametrilor Hematologici Ale Sângelui Periferic Determinate Prin HLG Automată.

I. Scăderea numărului de eritrocite; Scăderea HGB şi HCT.ANEMIA.
O.M.S. recomandă încadrarea în acest diagnostic când valorile HGB sunt:

la bărbatul adult < 13g/dl
femeia adultă <12g/dl
copil<6 ani=<11g/dl
copil 6-14 ani<12g/dl

Numărul de eritrocite , constantele şi indicii eritrocitari,hematocritul, RDW aduc informaţii suplimentare pentru precizarea diagnosticului.

a) Anemia hipocromă microcitară :HEM <27pg; VEM <80fl ; CHEM<32 %
Se diferenţiază:
1. Anemia feriprivă hiposideremică:hemoragii cronice, malabsorbţie, sarcină, alăptare, perioade de creştere, infecţii, neoplazii, sindrom nefrotic.
2. Anemii sideroblastice prin defect de utilizare a Fe.
3. Talesemia.

b) Anemii macrocitare şi ,, hipercrome '' : HEM>32pg ; VEM>94fl .
1.Anemii megaloblastice prin carenţă de vitamina B12, primară sau secundară: anemia Biermer, botriocefaloză, maladiea Crohn, medicamentoasă, neoplazii.
2. Anemii megaloblastice prin carenţă de acid folic : carenţe nutritive, malabsorbţie, etc.

c) Anemii normocitare normocrome : HEM 28-32 pg; VEM 82-92 fl .

Caracterizează : anemiile hemolitice, hemoragiile acute, anemii refractare .
II. Creşterea numărului de eritrocite
RBC > 6×10^6/µl
HGB > 18 g/dl la barbaţi şi > 17g/dl la femei
HCT > 54 % la barbaţi şi > 51% la femei
1. Poliglobulia relativă : hemoconcentraţie prin sindroame de deshidratare.
2. Poliglobulia secundară : B.P.O.C., cardiopatii cianogene , hemoglobinopatii
3. Poliglobulia primitivă- Boala Vaquez, sindrom mieloproliferativ, idiopatic însoţit de leucocitoză şi trombocitoză.
III. Leucocitoza
1. Leucocitoza fiziologică : La nou născut aproximativ 25.000/µl ; la copil 12000 - 14000/µl în sarcină, efort, stări emoţionale, caniculă.
2. Leucocitoză infecţioasă; infecţii bacteriene localizate sau sistemice, infecţii virale la debut sau perioade de incubaţie a bolilor infecţioase .
3.Leucocitoză post hemoragică .
4.Leucocitoză neinfecţioasă: neoplazii, boală de iradiere, metebolice.

IV. Radiaţii leucemoide: numarul de leucocite >30×10^3/µl .
1.Mieloide: infectii grave, hemolize, intoxicaţii .
2.Limfoide: Boala Carl Smith, tuse convulsivă , mononucleoză infecţioasă . IV.Leucopenia. Scăderea numărului de leucocite <4×10^3/µl .
Se datorează frecvent unei neutropenii, PMN <3000/µl .

Poate fi :
-constitutională
-infecţioasă :virală, febra tifoidă, bruceloză, malarie, tuberculoză, fungică

-hemopatii: anemie aplastică, cronică, leucemii, sindrom Chediack-Higashi, hemoglobinuria paroxistică nocturnă .

V. Agranulocitoza .Scăderea PMN sub 500/µl .
-idiopatică
-secundară: medicamentoasă ,substanţe chimice, infectii virale, infecţie cu Salmonella typhi , microbacterii, boală de iradiere, endocrine, neoplazii .

VI. Eozinopenie : febra tifoidă, tuberculoză, şoc,hemolize, anemie Biermer .
VII. Eoziofilie : cresterea numărului de eozinofile >4 % sau >400-500/µl .
1. Infecţioasă : scarlatină, dizenteria amebiană, varicelă, febră aftoasă, gonococie, oreion, herpes zoster, tuberculoză, lepră .
2. Post infecţioasă-convalescenţa bolilor infecţioase .
3. Parazitară :helmintiaza, echinococoză, trichineloză, toxocaroză, ankilostomiază, cisticercoză, f ascioloză hepatică, enterobiază etc.
4. Micoze: aspergiloză , coccidiomicoză .
5. Hemopatii maligne: leucemia cu eozinofile, boala Hodkin, limfadenopatie angioimunoblastică .
6. Neuro-vegetativă .
7. Alergică : urticarie, migrene, astm bronşic, rinită, boala serului, stări anafilactice .
8. Dermatologică : pemfigus bulos, dermatite herpetiforme, atopică, eczeme psoriazis .
9. Paraneoplazică : cancere metastatice, pulmonare, ovariene, seroase; melanom
10. De iradiere : radioterapie , raze X .
11. Boli endocrine: maladie Addison, mixedem .
12. Toxică: intoxicaţie cu arsenic, fosfor, benzen, acid sulfuric, barbiturice
13. Medicamentoasă :digitală, acetilcolină, salicilaţi, antipirină, fenotiazină, etc.
14. Diferite afecţiuni: cologenoze, rahitism, glomerulonefrite, insuficienţă renală, etc.

VIII. Bazofilia : >1% sau > 60/µl bazofile în formula leucocitară.
Valori moderate : diabet, dislipidemii, mizedem .
Valori importante: sindroame mieloproliferative cronice, leucemia cu bazofile, boala de iradiere, neoplazii etc.
IX. Limfocitoza
Fiziologică: la nou -născut, sugar ≥60 % dinF.L.
La copil , adolescent ≈35 %
1. Infecţioasă : mononucleoză infecţioasă , boala Karl Smith, rubeolă, rujeolă, oreion, toxoplasmoză etc.
2. Post infectioasă : convalescenţa bolilor infectioase .
3. Hemopatii: limfoame, sindrom Sézary, gama-patii monoclonale, anemie aplastică .
4. Endocrină : maladia Basedow, Addison, acromegalia, tetania etc.
5. Carenţială: avitaminoze, rahitism .
6. Boli metabolice: diabet, obezitate .
7. Alte afecţiuni : psihopatii, epilepsie, neurastenie .
8. Constituţională .
9. Toxică şi postmedicamentoasă

X. Limfopenie. Frecvent se întâlneşte o limfopenie relativă corelată cu neutrofilia.
Limfopenie infecţioasă : febra tifoidă, tifos exantemic.

XI. Monocitoza > 10 % în FL ; 1000/µl
1. Monocitoza infecţioasă .
2. Infecţia cu CMV; subiecţi imunodeprimaţi, transfuzaţi, transplantaţi, SIDA
3. Toxoplasmoza
4. Infecţii cu monocitoză fără leucocitoză:
- Acute: rujeolă, varicelă, dizenterie, parotidită , encefalite, bruceloză, lozisteriă, hepatită virală .
- Cronice: sifilis, tuberculoză, paludism, tripanosomiaza, etc.
5. Infecţii cu monocitoză şi leucocitoză: endocardită, angină Plaut- Vincent, difterie, variolă, febre exantematice .
6. Hemopatii : sindrom mielodisplazic , poliglobulie, limfoame, sarcoidoză, metaplazie mieloidă cu mielosclerozăă .
7. Boli de colagen: artrită reumatoidă, lupus eritematos sistemic.
8. Colită ulceroasă , enterite regionale .
9. Intoxicaţii şi reacţii postmedicamentoase.

XII. Monocitopenie < 200/µl
Apare în: infecţii acute, terapie cu corticosteroizi, citostatice, neoplazii.

XIII. Hiperplachetoza :400-800× 10^3/µl plachete
Acompaniază:
1. Anemia post hemoragică acută, hemolitică, feriprivă .
2. Infecţii acute : septicemii, bronşite, scarlatine, etc.
3. Convalescenţa bolilor infecţioase.
4. Splenectomia .
5. Boli neoplazice : mezoteliom pleural, peritoneal, tumori maligne cu diverse localizări, limfoame .
6. Maladii prin mecanism imun : spondilită, colită ulceroasă, lupus eritematos sistemic, amiloidoză .
7. Cardiopatii cianogene, valvulopatii.
8. Caşexie, alcoolism cronic, agonie .
Trombocitemia : număr plachete >800×10^3/µl
Esenţială:Trombocitemia hemoragică trombotică
Secundară: Sindroame mieloproliferative cronice, cancer de colon.

XIV. Trombocitopenie. Scăderea numărului de plachete sub 150×10^3/µl dar mai ales < 50×10^3/ µl .
Trombocitopenie cu durată de viaţă a plachetelor scăzută prin distrucţie periferică dar cu număr normal sau crescut de megacariocite.

Prin mecanism imun :
a) autoimunizare (autoanticorpi antiplachetari)
Fie idiopatică : maladia Werlhof- purpura trombocitopenică idiopatică.
Fie secundară unui agent identificabil ;
-infecţii virale (varicelă, rubeolă, rujeolă, herpes, adenoviroze, gripa B)
-medicamente
-maladii de fond: lupus eritematos sistemic, limfoame.

b) izoimunizare : incompatibilitate plachetară feto-maternală
Prin mecanism neimunologic: hipersplenism cu splenomegalie, infectii, ciroză splenomegalică, hipertensiune portală, tumori, fibrinoliză, sindrom de coagulare intravasculară diseminată, dializaţi .
Trombocitopenic cu durată de viaţă a plachetelor normală şi defect central de formare : anemie Biermer, hemoglobinurie paroxistică nocturnă, metasta-ze medulare, limfoame, tezaurismoze, granuloame tuberculoase, leucemii acute, insuficienţă medulară din S.I.D.A sau seropozitivitate H.I.V., toxică, postmedicamentoasă, aplazii medulare, radiaţii, meningococcemie .

4.2.5.b. EXAMENUL MORFOLOGIC AL FROTIULUI de sânge periferic reprezintă o importantă componetă a activităţii din compartimentul de hematologie deoarece:

- permite controlul valorilor numărătorilor automate efectuate pe analizorul SYSMEX SX-1000 i;
- furnizează detatalii morfologice valoroase despre seriile eritrocitare, leucocitare, trombocitare,celule anormale.
- poate indica direct diagnosticul sau să formuleze sugestii pentru investigaţii suplimentare.

După efectuarea HLG automate la analizorul hematologic Sysmex XS-1000i , medicul selectează probele care necesită controlul morfologic şi examinare suplimentară pe frotiul hematologic colorat MGG .
Asistenta de laborator execută frotiul, prepară reactivii, colorează preparatul şi-l prezintă examinatorului .

4.2.6.b.Tehnica întinderii frotiului

Din vacutainerul ce conţine proba de sânge selectată , se prelevă o picătură de sânge venos sau capilar ; se pune picătura pe capătul din dreapta al unei lame care stă pe masa de lucru .Lama de întins(o lamă diferită şi ciobită la un colţ, ca să fie mai mică decât cea pe care se execută frotiul), se aplică mai la stânga pe lamă, întrun unghi de aproximativ 45°. Se aduce lama de întins spre dreapta, până atinge picătura de sânge.Aceasta se întinde rapid în unghiul format de lama de întins .

Cu un gest uniform se împinge lama de întins întro mişcare de translaţie în lungul lamei.Preparatul se usucă foarte repede prin agitare în aer.Acest timp reprezintă o primă fixare.Este recomandabil să se execute două frotiuri, unul păstrându-se ca rezervă .Pe lamă se scrie numele bolnavului(cu un vârf de ac, colţul unei lame sau creionul) şi se pune la colorat .

Calităţile unui frotiu.
Un frotiu este reuşit dacă:
a) este mai îngust decât lama
b) nu acoperă toată lama,are margini drepte şi franjuri la extremitatea terminală.
c) are o grosime potrivită astfel încât celulele să fie întrun singur plan, distribuite uniform,să nu fie distruse sau deformate .
Frotiul nereuşit este gros, neuniform, uscat lent sau când lama este nedegresată .

Frotiurile din sânge capilar, executate direct din picătura de puncţie, sunt superioare calitativ celor din sânge venos întrucât morfologia celulelor este complet consevată iar studiul plachetelor permite şi aprecierea gradului de agregabilitate în grupe celulare .
Frotiul se colorează cât mai curând posibil întrucât în lamele nefixate şi necolorate celulele se degradează pierzându-şi afinitatea tinctorială .

4.2.7.b Metoda coloraţiei May-Grünwald-Giemsa

a) Principiul metodei
Este o coloraţie panoptică care oferă numeroase detalii morfologice şi de aceea este considerată deosebit de preţioasă în hematologia curentă.
Colorarea unui frotiu poate fi efectuată imediat după întindere sau în primele 24 de ore de la preparare .Datorită amestecului de coloranţi acizi , bazici şi neutri, se vor colora toate componentele celulei sanguine în funcţie afinităţile tinctoriale .
Compoziţia soluţiilor colorante.

Soluţia May-Grünwald:		Soluţa Giemsa :	
- eozinat de albastru de metilen	1g	- eozinat de azur de metilen	3g
- glicerină neutră p.a.	50ml	- azur de metilen	0,8g
- alcool metilic p.a.	100ml	- glicerină neutră p.a.	200ml
-alcool metilic p.a.	200ml		

Reactivii sunt achiziţionaţi pe baza referatului de necesitate FGL – 4.6 - 02, sunt gata preparaţi excluzând astfel eventualele erori umane, de cântărire, preparare.
Au certificat de calitate.
Pentru a realiza o coloraţie cu cele mai frumoase nuanţe cromatice trebuie utilizată apă neutră.
Controlul neutralităţii apei se realizează cu hârtie pH-indicatoare.
Apa distilată are pH acid 7 – 7,2. Neutralizarea ei se obţine adăugând câteva picături dintro soluţie slab alcalină de carbonat de sodiu 1% la 500ml apă distilată .

Coloraţia MGG dă indicaţie asupra pH-ului componentelor celulare. Astfel,coloranţii acizi sunt fixaţi de porţiunile alcaline ale celulei, care sunt acidofile, iar coloranţii bazici sunt fixaţi de părţile acide, deci sunt bazofile .

Coloranţi acizi: eozina
Coloranţi bazici : albastrul de metilen, eozinat de azur de metilen .

Astfel eozina este fixată de granulaţiile eozinofile care sunt alcaline; albastrul de metilen este fixat de ARN –ul citoplasmatic colorând-o în albastru ; azurul de metilen este fixat de ADN nuclear colorându-l în violet purpuriu. Nucleolul fixează albastrul de metilen deoarece conţine ARN de tip citoplasmatic colorându-se în albastru .
Cu cât o celulă este mai tânără cu atât citoplasma sa este mai bazofilă datorită concentraţiei în ARN. Pe măsura maturării, celulela devine tot mai oxifilă deoarece scade concentraţia de ARN (exemplu evoluţia eritroblaştilor)
Termenii oxifil, acidofil, eozinofil sunt sinonime care indică afinitatea pentru coloranţii acizi .

b) Tehnica de colorare May-Grünwald Giemsa a frotiului de sânge periferic .
1) Fixarea.Se acoperă frotiul cu un număr cunoscut de picături din soluţia May- Grünwald şi se lasă 2-3 minute .
2) Colorarea se face în doi timpi :

- **timpul 1**: se adaugă peste soluţia M.G. un număr egal de picături de apă tamponată, se omogenizează şi se lasă 2 minute .
- **timpul 2**: se varsă soluţia de pe lamă şi fără să se spele se acoperă cu soluţie Giemsa preparată extemporaneu . O picătură soluţie Giemsa concentrată la 1ml apă tamponată. Se lasă în repaos 20 minute. Se spală cu apă de robinet se şterge dosul lamei, se lasă în stativ pentru uscare.

Dacă apa tamponată a fost alcalină, frotiul este albastru închis, dacă a fost acidă, frotiul este roşu aprins. În ambele situaţii examenul morfologic este dificil şi lipsit de acurateţe .

4.2.8.b EXAMENUL FROTIULUI DE SÂNGE

I. Examinarea macroscopică urmăreşte aprecierea calităţilor de întindere şi colorare ale frotiului .
Un frotiu subţire, uniform, cu margini paralele, terminat în franjuri de culoare roz violaceu va asigura un examen microscopic corespunzător.

II. Examinarea microscopică urmăreşte:
a) cu obiectiv uscat (× 20)
- densitatea şi distribuţia celulară ,realizând estimări semicantitative şi confruntând rezultatele numărătorii automate.
- tinctorialitatea celulară .
- prezenţa de celule anormale, atipice .
- alegerea zonei adecvate pentru examinarea cu obiectivul cu imersie.

De obicei la unirea 1/3 medie cu 1/3 terminală etalarea celulelor este optimă pentru a efectua analiza morfologică detaliată .

b) Examenul microscopic cu obiectivul cu imersie.
Se examinează pe rând: morfologia eritrocitelor,frecvenţa şi morfologia trombocitelor, frecvenţa şi morfologia leucocitelor cu întocmirea caietul de lucru cod:CL – 01 Citologie Frotiu Sanguin.
Se recomandă această ordine de examinare deoarece dacă se începe cu studiul leucocitelor,atractiv şi spectaculos prin variaţiile de formă, structură şi culoare, există riscul omiterii evidenţierii anomaliilor eritrocitelor şi trombocitelor indis-
pensabile conturării unui diagnostic concludent .
Analiza coroborată a informaţiilor examenului microscopic permite,,Diagnosticul de celulă’’ , precizându-se :
• Seria celulară din care face parte: elemente proprii ţesutului hematopoietic (granulocitare, eritrocitare ,megakariocitare); seria limfocitară ,seria monocito-macrofagică .
• Tipul celulei din seria respectivă urmărind talia, structura nucleului, prezenţa nucleolilor , tinctorialitatea citoplasmei, particularităţi morfologice nucleare şi/ sau citoplasmatice .
•Vârsta celulei : diferenţierea elementului tânăr ,,blast ’’, de cel matur ,, cit ’’.

Caracteristicile vârstei celulelor

Caractere morfologice	,,BLAST ’’	,, CIT ’’

Talie	Celulă mare	Celulă mai mică
Raport nucleo - citoplasmatic	În favoarea nucleului	În favoarea citoplasmei
Citoplasmă	Bazofilă	Oxofilă
Reţea cromatiniană	fină	densă
Nucleol	Prezenţi obligatoriu	absenţi

• Prezenţa elementelor anormale respectiv blaşti, celule metastatice, paraziţi .
• Dispoziţia particulară a celulelor .

4.2.9.b. Morfologia elementelor normale din sângele periferic examinate cu imersia

- Eritrocite normale au forma unui disc biconcav cu diametrul de 7,2 μ de culoare roz portocalie (acidofile datorită conţinutului în HGB) cu centrul mai puţin colorat, clar. Se apreciază talia, forma, culoarea, dispoziţia; sunt normocitare,normocrome .
- Trombocitele sunt elemente mici cu diametrul de 2 -4 μ. Formă sferică, ovoidală, neregulată cu granulaţii azurofile în centru (granulomer) şi periferia albastră (hialomer).
- Leucocitele sunt reprezentate de granulocite nesegmentate şi segmentate diferenţiate prin granulaţii specifice neutrofile, eozinofile, bazofile şi elemente mononucleate, respectiv limfocite şi monocite.

Identificarea diverselor tipuri de leucocite se bazează pe următoarele caracteristici:
- mărimea
- forma ,poziţia, structura cromatiniană a nucleului
- culoarea, cantitatea citoplasmei; raportul nucleo-citoplasmatic
- număr , culoare, mărime, distribuţie a granulaţiilor
- prezenţa şi aspectul nucleolilor

Ansamblul acestor caracteristici va asigura identificarea celulară .
Granulocitele au dimensiunea de 12-15μ . Nucleul mare, structura cromatiniană foarte densă, cu benzi grosiere de bazicromatină despărţite de spaţii fine de oxicromatină, segmentat în 3-5 lobi, colorat în violet închis.

Citoplasma oxifilă în care se delimitează granulaţiile neutrofile,eozinofile, bazofile.
Granulaţiile neutrofile: fine, rotunde, numeroase, culoare brună.
Granulaţiile eozinofile: mari, rotunde ca ,,icrele de Manciuria'', portocalii brun roşcat.
Granulaţiile bazofile: mari, neregulate, inegale, brun închis; apar şi pe nucleu .
Limfocitele se diferenţiază în mari , mijlocii şi mici cu diametrul între 6,2-16μ, nucleul mare, rotund, cromatină densă, violet închis, agregată în grămezi mari compacte, fără nucleol, citoplasmă redusă cantitativ, bazofilă, uneori cu câteva granulaţii azurofile foarte închise la culoare .
Monocitele sunt celule mari cu diametrul 20-25μ, nucleu mare, extrem de variat ca formă, structură cromatiniamă fină, citoplasmă albastru cenuşiu cu fine granulaţii azurofile.
Diferenţierea şi clasificarea procentuală a diverselor tipuri de leucocite prezente pe frotiul sanguin reprezintă ,,formula leucocitară'', respectiv numarătoarea diferenţiată a leucocitelor.

Tehnica de efectuare a FL : pe frotiu se pune o picătură de ulei de cedru şi se fixează poziţia obiectivului folosind macroviza apoi microviza microscopului optic cu diafragmul deschis şi condensatorul sus .
Lama se deplasează în aşa fel încât marginea frotiului să fie examinată în zig zag, într-o singură direcţie pentru a nu citi de două ori aceeaşi porţiune.

Pe masură ce se traversează frotiul leucocitele se notează pe un tabel în dreptul simbolului consemnat. Se numără 200 de elemente sau mai multe şi se face procentajul fiecărei clase .

Formula leucocitară normală

Leucocite	Nou-născut	Sugar	Copil (6 ani)	Adult	Valori absolute
	15.000 - 30.000	9.000 - 15.000	4.000 - 10.000	4.000 - 8.000	
Neutrofil nesegmentat	1 -5 %	1 -5 %	5 %	1 -4 %	50 -200
Neutrofil segmentat	30-70 %	25-30 %	30-60 %	60-70 %	3.000-4.800
Eozinofil	2 -5 %	7 %	4 %	1 -4 %	300-400
Bazofil	0 -1 %	1 %	1 %	0 -1 %	20-80
Limfocit	20-40 %	50-70 %	30-60 %	25-30 %	1.500-2.400
Monocit	2 -8 %	6 -8 %	4 -8 %	4 -8 %	240-600
Plasmocit	0	0	0	0 -0,5 %	10-40

Efectuarea FL este cerinţa cel mai frecvent solicitată de clinician, contribuind la precizarea unui diagnostic şi instituirea terapiei.

Erori ale rezultatelor comunicate la efectuarea FL .
1. Eroare mecanică dată de imperfecţiunile executării frotiului .
Elementele se distribuie neumiform, cele de talie mare marginalizează, se adună în franjuri perturbând procentele .
2. Erori de interpretare care ţin de gradul de instrucţie şi performanţa profesională a examinatorului .
3. Erori de eşantionaj. Nu pot fi evitate decât încercând examinarea unui număr cât mai mare de celule ce va putea permite concluzii despre întreaga populaţie sanguină .

4.2.10.b. Aspecte anormale ale elementelor celulare ale frotiului de sânge periferic

I. Modificări patologice ale eritrocitelor
- Modificări morfologice de talie: - ANIZOCITOZA reprezintă inegalitatea de mărime a eritrocitelor semn al existenţei de populaţii de vârste diferite .

Gradul de variaţie a mărimii se exprimă sub formă: uşoară +, medie ++, marcată+++ .
- MICROCITOZA : hematii cu diametrul sub 7,2µ, frecvent hipocrome sau micro-

sferocite(hematii rotunde ,uniform colorate, lipsite de zona clară centrală) .
-MACROCITOZA : hematii ce depăşesc 9µ diametru, apar bine colorate, oxifile; cele ce depăşesc 12µ sunt megalocite,respectiv hematii gigante, ovalocitare, uniform colorate .
II. Modificări morfologice de tinctorialitate :
- ANIZOCROMIE: prezenţa pe frotiu de eritrocite normo, hipo, ,, hiper'' crome .
- POLICROMATOFILIE: prezenţa de E . cu tentă cenuşie reprezentate de reticulocite(macrocite policromatofile) .Indică regenerare hematopoietică .
- HIPOCROMIA – E . palide, sunt slab încărcate în HGB,aceasta fiind concentrată la periferie ; uneori când HEM e mult scăzut, hematia devine inelară(anulocit) .
-,,HIPERCROMIA'' – noţiunea nu este reală întrucât CHEM nu depăşeşte 36 ± 2 % dar aspectul sferocitelor, macrocitelor, megalo-ovalocitelor poate sugera această formulare indusă de creşterea grosimii celulei .

III. Modificări morfologice de formulă:
Sunt variate şi numeroase constituind repere importante în diagnosticul anemiilor
POIKILOCITOZA : deformare pronunţată a E . care iau formă de rachetă de tenis, pară, ovalară, contur neregulat, dantelat .
SFEROCITE :E.mici ,rotunde intens şi uniform colorate cu diametrul de aproximativ 4µ .
STOMATOCITE : E . sferice cu zona centrală sub forma unei fisuri .
CELULE ,,ÎN ŢINTĂ'' :E . cu centrul şi periferia bine colorate în roz, despărţite de o zonă inelară clară .
DACROCITE : E . ,,în lacrimă'' ,piriforme, uniform colorate .
ACANTOCITE :E . cu membrana citoplasmatică deformată, neregulată .
SCHIZOCITE : fragmente eritrocitare, E . în ,,coif'' sau ,,coajă de ou''.
DREPANOCITE : sunt hematii în ,, semilună'' sau seceră, virgulă .
Apar mai sugestiv dacă sângele este lăsat mai mult între lamă şi lamelă sau se adaugă substanţe reducătoare .
LEPTOCITE : sunt hematii lenticulare , uniform colorate cu membrana citoplas-matică deformată .
INCLUZII ERITROCITARE
Sunt întotdeauna anormale şi trebuie menţionate .
INELE CABOT : filamente inelare azurofile provenite din fibrilele fusului de mitoză .
CORPUSCULI JOLLY : resturi de cromatină nucleară, dispuse în citoplasmă, rotunde cu aspect dens, picnotic ,colorate violet închis .
PUNCTAŢII BAZOFILE : granule numeroase, neregulate, inegale răspândite uniform în citoplasmă, colorate în albastru verzui .
CORPUSCULII HEINZ : granule mici, rotunde, puţine ca număr, aşezate la periferia celulei, mai frecvrnt izolate, unice. Nu se colorează panoptic MGG ci numai cu albastru de Nil ,violet metil sau albastru de briliant crezil .
Modificări de dispunere: aşezare a hematiilor ,,în rulouri '' .

VI. Modificări morfologice ale leucocitelor;
Anomalii nucleare şi citoplasmatice
Variaţii de talie :
ANIZOCITOZA : există o anizocitoză fiziologică care devine pronunţată în condiţii patologice .
Granulocitele gigante depăşesc cu 4-5µ dimensiunile unui granulocit normal.
Când sunt şi hipersegmentate se numesc macropolicite.
Pleiocariocitele prezintă 6-8-10 lobi maturându-se amitotic din promielocite .
Karioschize : mici pedicoli ai nucleului , uneori foarte numeroşi .

Granulaţiile toxice : granulaţii multiple, imature burând citoplasma granulocitelor.
Umbre nucleare Gumprecht : vestigii nucleare oxifile care apar datorită acţiunii mecanice de întindere asupra unor celule cu fragilitate crescută .
Limfocite tip Rieder:nucleul prezintă o incizură profundă;citoplasmă hiperbazofilă
Vacuolizări citoplasmatice ale PMN şi monocitelor – formaţiuni rotunde, clare ce înlocuiesc citoplasma, uneori multilpe .
Celule Sézary: limfocite mici cu nuclei convoluţi,voluminoşi, neregulaţi, citoplasmă redusă bazofilă .
Tricholeucocite (hairy cells): monocleare cu citoplasma în franjuri şi fine granulaţii azurofile .
Celule mononucleate reacţionale ,,mononucleozice ''- celule mari cu nuclei polimorfi şi citoplasme hiperbazofile uneori cu vestigii nucleolare .

V. Anomalii morfologice ale trombocitelor
Anizocitoză plachetară, displazii ale granulomerului şi /sau hialomerului macro/ megalocite, dispunere în ,,plaje'' .

4.3.b. CONTROLUL DE CALITATE

Este asigurat prin respectarea riguroasă a cerinţelor tehnice de execuţie a frotiului, folosirea de reactivi ce posedă certificat de calitate, examinare temeinică de către medic primar de specialitate, cu experienţă .

4.4.b. PERFORMANŢELE METODEI

Examenul morfologic al citologiei frotiului de sânge periferic este indispensabil unui diagnostic rapid, complet şi corect cât şi iniţierii unei anumite terapii .
,,Sângele este un ordinator care transmite mesaje, oglindă în care se reflectă bolile viscerale ''- Jean Bernard .
Frotiul de sânge poate să indice direct diagnosticul fie să asigure sugestii pentru extinderea explorărilor paraclinice .
Exactitatea metodei, acurateţea şi reproductibilitatea ei sunt asigurate de respectarea etapelor de lucru şi a parametrilor de calitate standardizaţi .

4.5.b. ACTIVITĂŢI FINALE

Frotiurile hematologice cu modificări importante sunt păstrate 1-2 săptămâni pentru eventuale reexaminări. Celelalte frotiuri sunt introduse în borcan cu sulfocrom pentru decontaminare şi după 24 de ore supuse metodologiei de pregătire a lamelor de microscop.

4.6.b. REZULTATE ŞI INTERPRETARE

Rezultatele analizei morfologice pe serii hematopoietice,limfocitare, monocito-macrofagice, formula leucocitară, uneori diagnosticul clinic sau sugestiile pentru investigaţii suplimentare sunt introduse manual în calculator pentru a configura buletinul de analiză cod:PGL- 5.8
Ed.1, Rev.0.
Deşi medicina modernă beneficiază de progresele cercetării tehnico-ştiinţifice, biologiei moleculare, aportul adus de examinarea microscopică a preparatului de sânge periferic rămâne preţios şi de neeludat.

Modificări morfologice ale frotiului de sânge periferic sugestive de boală şi investigaţiile indicat

Modificări pe frotiu	Boala sugerată	Investigaţii indicate
Hipocromie +microcitoză	A. feriprivă A. cronică în infecţii	Hemosiderină medulară, sideremie
Hipocromie +macrocite policromatofile	HPN	Testul HAM
Hipocromie +punctaţii bazofile	A. saturnină	Plumbemie/urie
Hipocromie,poikilocitoză, hematii în ,,ţintă'',schizocite	Talasemie	Electroforeza HGB
Hipocromie, microcitoză, anulocite	A. cronică în infecţii	Hemosiderină medulară
Sferocite +policromatofilie	A. hemolitică (sferocitoză ereditară)	Autohemoliză ± glucoză
Sferocite +policromatofilie + aglutinare + DS	AHAI (criză)	Testul Coombs
Schizocite,policromatofilie, rare TR .	CID A.microangiopatică	coagulogramă
Dacriocite+bazofile+granulaţii imature +eritroblaşti + TR .displazice	MMM	Biopsie medulară
Eritrocite ,,în ţintă'', drepanocite	Siclemie	Electroforeză HGB

Modificări pe frotiu	Boala sugerată	Investigaţii indicate
E . în rulouri +tablou leucoeritroblastic ±limfocite reacţionale	Mielom multiplu	Mielograma
Macromegalocitoză, gigantism celular,DS, hipersegmentarea PMN	A. megaloblastică	Mielogramă Dozare vit. B12
Microsferocite ,plicromatofilie	Sferocitoză eritrocitară	Det HGB alcalino rezistente
Stomatocite+macrocite	Stomatocitoză ereditară, alcoolism,ciroze	Teste hepatice
Punctaţii bazofile în E .	Saturnism A.megaloblastice,talase-mie	Dozarea Pb mielogramă Electroforeza HGB

Inele Cabot,corpusculi Jolly	A. megaloblastice SMD	mielogramă
Corpusculi Heinz	Intoxicaţii methemoglobinizante	Dozări toxicologice

Leuzocitoză, DS,granulaţii toxice,vacuorizări MONO .şi PMN	Reacţie leucemoidă mieloidă, infecţii grave	Fosfatază alcalină leuco-citară
Leucocitoză, DS , bazofilie , eozinofilie	LGC	FAL , cariotip
Tablou leucoeritroblastic +DS , Leucopenie, celule atipice ,TR. crescute	Neoplazii	Mielogramă Explorări imagistice

Modificări pe frotiu	Boala sugerată	Investigaţii indicate
Leucocitoză, limfocitoză, umbre Gumprecht	Leucemie limfatică cronică	Imunofenotipare Ex. clinic
Celule ,,hairy''+monocito-penie ± neutropenie	,,Hairy cells leukemia''	Biopsia măduvii osoase
Limfocite cu nucleu con-volut	Sindrom Sézary	Imunofenotipare
Leucocitoză+limfomono-citoză+celule ,,monucleozice'' bazofile	M. I.	Reacţia Paul Bunnell Ig M Epsein Baar
Anemie+trombocitopenie+ blaşti atipici+hiatus leuce-mic	Leucemie acută	Mielogramă citochimie imunofenotipare
Macro-megalotrombocite + Hiperplachetoză+bazofilie ± corpi Jolly	MMM	Biopsie M.O.
Eozinofilia ± leucocitoză	Scarlatină Boli parazitare	Examen faringian pt.SBH Ex. coproparazitologic
Leucocitoză majoră +limfo-citoză monomorfă	Tuse convulsivă	Ex. clinic
Plasmocitoză ±leucopenie ± trombocitopenie	Rubeolă Alte boli infecţioase	Reacţii serologice în con-cordanţă cu ex. clinic
Monocitoză ± limfocite reacţionale	Infecţie CMV Alte boli infecţioase Boli diareice	Serologie HIV Ex. Clinic coprocultură

4.2.5.c VSH: Determinarea vitezei de sedimentare a hematiilor într-un interval standard de timp (60 min).

Determinarea de grup sanguin ABO şi Rh :
Determinarea grupului sanguin în sistemul ABO şi a factorului Rh.

4.2.6.c.VSH:
Într-un tub de sticlă poziţionat vertical, hematiile sângelui integral sedimentează cu o viteză ce depinde de anumiţi factori (volumul hematiei, forma hematiei, hematocrit, prezenţa unor proteine normale sau patologice).

O crestere a VSH nu este specifica si nu poate pune un diagnostic de boala, ci arata medicului ca undeva in organism exista o infectie acuta sau cronica, o boala cronica neinfectioasa sau o dereglare a functiei normale a unor organe interne (ficat, rinichi, plamani, etc.).
VSH este o analiza de orientare si numai medicul se pricepe sa caute dintre sutele de cauze pe cea care a produs cresterea peste normal a valorii VSH.
Cresterea VSH peste 40-50 mm la ora constituie un semnal de alarma, chiar in lipsa altor simptome de boala. In acest caz, repetarea analizei dupa doua saptamani este absolut necesara. Dupa cum valorarea VSH scade, se mentine sau creste, medicul isi poate da seama si de evolutia bolii.
Dar VSH poate creste si in unele conditii fiziologice, asa cum s-a constatat la femei in perioada menstruala sau dupa luna a patra de sarcina, ori la persoanele mai in varsta. Exista si persoane care toata viata au VSH moderat crescut (20/40 mm) fara sa aiba vreo boala - constitutional. Totusi cresteri foarte mari ale VSH se intalnesc in aproape toate infectiile acute microbiene si virale, in tuberculoza, in reumatism, in anemie, in unele boli parazitare, in boli hepatice, ale rinichilor, in boli tumorale, etc

4.2.7c. Determinarea de grup sanguin ABO şi Rh :
Anticorpii de grup sanguin anti-A, anti B, anti AB, precum şi anticorpii anti D (factor RH) conţinuţi în serul monospecific test, aglutinează direct cu eritrocitele omologe din sângele de cercetat.

- seruri monospecifice anti-A, anti-B, anti-AB ,anti-D
- Vacutainer hematologie cu anticoagulant EDTA
- Vacutainere VSH cu anticoagulant Na citrat, de diferite dimensiuni funcţie de firma producătoare, păstrând însă raportul constant între anticoagulant şi cantitatea de sânge recoltat.
- sânge proaspăt capilar (determinare grup ABO şi Rh) sau recoltat pe anticoagulant (hemoleucograma completă şi VSH).

4.2.8.c VSH:
Sângele proaspăt recoltat pe vacutainer VSH cu Na citrat, după omogenizare se poziţionează vertical în stativul de VSH şi se lasă să sedimenteze. La 30 şi 60 min se notează înălţimea coloanei de plasmă pe scara specifică a stativului şi se notează valorile (numărul de diviziuni) corespunzătoare fiecărui interval de timp.

VSH - 2 - 5 mm pentru sex masculin
2 - 7 mm pentru sex feminin

4.2.9.c Determinarea de grup sanguin ABO şi Rh :
- Se aduc reactivii la temperatura camerei (20-24 ^{0}C).
- Pentru lucrul din sângele capilar, după dezinfecţia zonei se înţeapă pulpa degetului cu lanţeta şi se depune câte o picătură de sânge în godeurile corespunzătoare, peste sânge se picură în godeuri câte o picătură de ser monospecific şi se omogenizează amestecul.
- Pentru lucrul cu sânge recoltat în vacutainer cu anticoagulant se agita usor de 8-10 ori, se pipetează în godeuri câte o picătură de eritrocite luate de pe fundul vacutainerului şi se picură apoi în godeuri câte 1 picătură din serurile test anti-A, anri-B, anti-AB şi anti-D. Se omogenizează amestecul.

- Citirea se face la 1-2 minute după omogenizare prin constatarea prezenţei/absenţei unei aglutinări complete, într-un ser clar, incolor, ce nu păstrează culoarea reactivilor.

4.2.10c. Exprimarea

VSH se face în: mm/1h

Exprimarea Grupului sangvin ABO şi Rh se face în: O I, A II, B III, AB IV şi pozitiv sau negativ. Prezenţa aglutinării în godeuri indică prezenţa eritrocitelor cu antigene specifice pentru grup respectiv (A, B, Rh pozitiv sau AB când aglutinarea este prezentă în ambele godeuri de grup).Absenţa aglutinării indică grup sanguin O pentru godeurile de grup sanguin şi Rh negativ pentru godeul cu ser anti-D.

Lamele se pastreaza in cutii speciale pentru circa 1-2 saptamani, pentru eventuale verificari ulterioare..
Se şterge obiectivul cu imersie prin înlăturarea uleiului de cedru; executantul se spală pe mîini, cu apă şi săpun, imediat.

4.2.11.c Intervale biologice de referinţă:
VSH:
- bărbaţi 5-15 div/ oră
- femei 5-20 div/oră

Determinarea de grup sanguin ABO şi Rh :

O I B III

A II AB IV

Determinarea de grup sanguin ABO şi Rh :

si: Rh negativ sau pozitiv

4.2.12.c.Specificaţii de performanţă:

Hemoleucograma completă:
Reproductibilitatea bazată pe 20 de citiri consecutive ale aceleiaşi probe de sânge proaspăt dă variaţii între
0- 2 % pentru numărători de elemente, hemoglobină şi hematocrit
5-10% pentru formunla leucocitară

VSH:
Metoda evaluează generic o serie de factori ce dau indicaţii despre prezenţa unor anemii şi/sau procese inflamatorii (infecţioase, reumatice/ degenerative / autoimune, tumorale); aceşti factori sunt evaluaţi de medic coroboraţi cu alte determinări clinice şi paraclinice în vederea elaborării diagnosticului.

Determinarea de grup sanguin ABO şi Rh:
Metoda fiind imunologică are o înaltă specificitate.

4.2.13.c.Principalele surse de variabilitate:

VSH: nu e cazul

Determinarea de grup sanguin ABO şi Rh :
Există situaţii rarisime când paternul imunologic al pacientului nu exprimă complet antigenele de suprafaţă corespunzătoare grupului sanguin sau mai ales al factorului Rh. Se constată atunci hemaglutinare parţială (1-2 grunji într-un amestec semiopac uniform ce păstrează culoarea reactivului. În acest caz pacientul este îndrumat către centrul teritorial de transfuzii pentru precizarea variabilităţii de factor Rh.

5. RESPONSABILITĂŢI

5.1. MANAGERUL GENERAL
- aprobă programul de control extern de calitate
- aprobă planul de etalonare/ verificare metrologică a analizorului

5.2. MANAGERUL TEHNIC
-stabileşte împreuna cu şeful de compartiment programul de control extern interlaboratoare.
-verifică şi aprobă buletinul de analiză.
-asigură consultanţă privind rezultatul investigaţiei de laborator când clinicianul o solicită, când este indisponibil, este înlocuit de locţiitorul stabilit.

5.3. ŞEFUL DE COMPARTIMENT
-este responsabilul de analiză în timpul programului normal de lucru
-stabileşte programul de control intern şi extern.
-verifică şi validează rezultatele controlului intern de calitate.
-execută analizele de laborator de care este responsabil şi validează prin semnătură rezultatele .
-verifică şi validează rezultatele analizelor efectuate de asistentul de laborator din subordine .
-validează prin semnătură buletinul de analiză cod: FGL – 5.8-01.
- întocmeşte referatul de necesitate, cod:FGL- 4.6- 02 ,Ed.1 , Rev.0/
- înregistrează reactivii şi materialele de referinţă în registrul de evidenţă al reactivilor, cod: FGL – 4.6-03, Ed.1,Rev0/.

5.4. RESPONSABILI DE ANALIZĂ

-sunt medicii de laborator autorizaţi şi instruiţi pentru utilizarea analizorului hematologic
-asigură programul de lucru în compartimentul de hematologie în timpul contravizitelor zilnice şi sărbătorilor legale
-efectuează operaţiunile de mentenaţă stabilite în timpul programului de lucru pe analizorul hematologic şi le înregistrează în fişa de mentenanţă

5.5. Asistentul Medical din Compartimentul De Recoltare /Prelevare a Probelor Biologice

- recoltează probele de sânge de la pacienti externi, le inscripţionează cu ID-ul probei, completează formularul de solicitare sau biletul de trimitere de uz intern, cod:FGL – 4.4 – 02.

5.6. Asistentul de Laborator

- preia probele de sânge şi biletele de trimitere de uz intern, înregistrează ID -urile probelor în registrul de lucru

- execută şi întreţine operaţiunile de curăţare şi dezinfecţie pentru care a fost instruit.

6. ÎNREGISTRĂRI ŞI ANEXE

FGL – 4.4- 02 - Formulare de solicitare analize medicale hematologice
FGL - 4.4 – 0??? - Bon de Comandă Internă pentru Analize de Laborator
RGL – 4.4 - 01 - Registru de evidenţă comenzi interne
RGL – 4.4 - 02 - Registru de evidenţă comenzi externe
FGL – 5.8 – 01 - Buletin de analiză
FGL – 4.4.- ??? - Bilet de trimitere de uz intern

7. ASIGURAREA CALITĂŢII ANALIZEI

- respectarea întocmai a protocolului analizorului / kit;
- verificarea termenelor de utilizare ale fiecărui reactiv;
- controlul intern de calitate;
- participarea la acţiuni de control extern al calităţii.

Spitalul Clinic de Boli Infecţioase"Sf.Parascheva,, Iaşi
Laboratorul de analize medicale
Str.Octav Botez Nr 2

PROCEDURA SPECIFICA

DETERMINARI BIOCHIMICE

COD PSL- 02

A LABORATORULUI DE ANALIZE MEDICALE

STANDARD DE REFERINTA: SR EN ISO 15189: 2007

EDITIA: 1
REVIZIA: 0
Data: 01.03.2011

DIFUZAT IN REGIM CONTROLAT: EXEMPLAR Nr.

DESTINATAR :…….

APROBAT	**VERIFICAT**
Manager	**Manager Calitate**
Prof.Dr. Carmen Dorobăţ	**Dr. Diana Matei**

Elaborat:

Manager Tehnic	**Sef compartiment Biochimie**
Dr. Rodica Fântânaru	**Chim. prin. Valentina Holban**

Data aprobarii : 01.03.2011
Data aplicarii : 15.03.2011

Avertisment : Documentul de fata este proprietatea **Spitalul Clinic de Boli Infecţioase"Sf.Parascheva,, Iaşi** - Laborator de analize medicale.
Reproducerea si difuzarea documentului sunt in exclusivitate dreptul societatii. Copiile sunt numerotate si controlate.

LISTA DE DIFUZARE / RETRAGERE

Locul difuzării	Primit				Retras			
	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură
R. C	0.	01.03. 2011	Dr. Diana Matei					
Manager General	1.	01.03. 2011	Prof.Dr. Carmen Dorobăţ					
Manager Tehnic		01.03. 2011	Dr. Rodica Fântânaru					
R. C	2.	01.03. 2011	Dr. Diana Matei					
Sef compartiment Biochimie	3.	01.03. 2011	Chim prin. Valentina Holban					
RENAR	4.	01.03.2011	Ing. Cristian Nichita					

INDICATORUL REVIZIILOR

Nr. Crt	Data	Editia/ revizia	Identificari modificare Capitol, subcapitol, pagina modificata, continut modificari	Functia si semnatura		
				Elaborat	Verificat	Aprobat
1	01.03. 2011	Ed. 1/ Rev. 0/	Elaborat PSL -01, in editia 1, revizia 0	Manager Tehnic Dr. Rodica Fântânaru Sef compartiment Biochimie Chim prin. Valentina Holban	Managerul Calitatii Dr. Diana Matei	Manager Prof.Dr. Carmen Dorobăţ

1. SCOP SI DOMENIU DE APLICARE

1.1. Aceasta procedura de testare descrie metoda de determinare a unor parametri biochimici in lichidele biologice.

1.2. Investigarea valorilor parametrilor din prezenta procedura se face in scop diagnostic şi de control periodic la persoanele din sectoarele cu risc.

2. DOCUMENTE DE REFERINTA

2.1 Manual de operare a analizorului automat de biochimie – A 25 BioSystems Reagent & Instruments.

2.2 Analize de laborator si alte explorari diagnostice, Dr. Ramona Banica, Dr. Marius Samoila, Dr. Lavinia Anghel, Dr. Marius Negru, Editura MedicArt, 2007.

2.3 Analize de laborator – ghid privind principiile, metodele de determinare si interpretare a rezultatelor – Editia a II-a revizuita, Gh. Manole, E.M. Galetescu, M. Mateescu, Editura Coresi, Bucuresti, 2005.

2.4 Metode biochimice de laborator clinic, Radu Olinescu, Editura CERMA, Bucuresti, 2001.

2.5 Ghid complet de analiza sangelui Dr. Rene J. Bourdiol, Editura Z, Bucuresti, 1998.

2.6 Diagnosticul de laborator in practica medicala, Dr. Gabriel Ivanovici, Dr. Ioana Fuiorea, Editura militara, Bucuresti, 1990**.**

3. DEFINITII SI ABREVIERI

3.1 Definitii

- **Analit** – component indicat in numele unei marimi masurabile. Acest component poate sa nu fie identic cu masurandul.
- **Calibrare: –** setul de operatii care stabileste, in conditii specificate, relatia dintre valorile indicate de instrumentul analitic si valorile corespunzatoare cunoscute ale unui analit. Procedeu de etalonarea / analizor / reactiv cu scopul dozării unui analit. Tehnica foloseşte soluţii de calibrare = calibratori = soluţii etalon de concentraţii exacte. Procedeul se verifică prin control de calitate pe două nivele: normal şi patologic.
- **Control:** procedeu de verificare şi validare a calibrării. Se execută cu seruri de control care au valoare ţintă şi un interval de valori cunoscut pentru fiecare analit / metodă, control ce se incadreaza in doua SD (deviatii standard).
- **Specificaţii de performanţă a calibrarii**: se consideră reuşită orice calibrare efectuată şi care respectă programul specific testului respectiv, este acceptată de softul analizorului şi care se verifică prin controlul de calitate pe două nivele: normal şi patologic.
- **Precizia calibrarii:** două controale de calitate succesive nu trebuie să conducă la rezultate mult diferite ale valorilor parametrilor determinaţi sau la valori în afara domeniului desemnat;
- **Principiul de masurare –** baza stiintifica a unei masurari.

3.2 Abrevieri

- ALAT/ALT/GPT/TGP - alanin-aminotransferaza
- ASAT/AST/GOT/TGO - aspartat-aminotransferaza
- ALP - fosfataza alcalină
- GAMA – GT/GGT - gamma glutamil transferaza

- Ca – calciu
- Mg – magneziu
- Fe – fier
- NAD – nicotinamid adenin dinucleotid
- NADH – NAD redus
- LDH - lactat dehidrogenaza
- MDH – malat dehidrogenaza
- EDTA - sarea acidului etilen diaminotetraacetic
- ID – MS - Dilutie izotopica / Spectrometrie de masa
- NCEP - National Cholesterol Education Program
- GLDH – glutamat dehidrogenaza
- Hb A1c - hemoglobina glicozilata
- DGKC – Societatea Germana de Chimie Clinica
- IFCC – Federatia Internationala de Chimie Clinica
- MPR – Material Propriu de Referinta
- ISM – Material Standard Intern
- ID – MS = Dilutie izotopica / Spectrometrie de masa
- AAS - spectrometrie de absorbtie atomica.
- SRM – Material de Referinta Standard
- A.C.H. – AutoCal H - Multicalibrator BioSystems
- Q.N. – QuantiNorm – Control normal BioSystems
- Q.P. – QuantiPath – Control patologic BioSystems
- C.B. – Multicalibrator BioSystems
- Q.N.B. – Control normal BioSystems
- Q.P.B. – Control patologic BioSystems
- Q.N. PCR – Control normal PCR
- Q.P. PCR - Control patologic PCR
- C.W.S. – Solutie concentrata de spalare a acului
- C.S.L. – Solutie concentrata de clatire a acului
- SALIN – Ser fiziologic
- A.D. – Apa distilata
- Na OCl 1,5% - hipoclorit de Na – Deproteinizarea acului

4 ECHIPAMENTE DE INCERCARE /MASURARE ŞI REACTIVI UTILIZAŢI:

Analizor automat de biochimie A 25 BioSystems Reagent & Instruments seria: 831011634

4.1 Pipete automate de :

- Pipeta Hamilton volum reglabil 0 -50 µl seria 05030411
- Pipeta Hamilton volum reglabil 0 -100 µl seria 046739

4.2 Varfuri pipete 10 – 100 – 200 – 500 – 5000 µl

4.3 Centrifuga seria 04-2700;

4.4 Frigider cu congelator: - 20^0 C

4.5 Frigider: 4-8 °C

4.6 Calculator cu programul informatic A 25 BioSystems V 4.0.0

4.7 Standard, reactivi, calibratori si controale.
- Standard de concentraţie 0 (zero) – apa distilata (A.D.)
- Reactivi specifici fiecărei dozări biochimice, imunologice
- A.C.H. – AutoCal H - Multicalibrator BioSystems
- Q.N.C. – QuantiNorm – Control normal BioSystems
- Q.P.C. – QuantiPath– Control patologic BioSystems
- C.B. – Multicalibrator BioSystems
- Q.N.B. – Control normal BioSystems
- Q.P.B. – Control patologic BioSystems
- Na OCl 1,5% - hipoclorit de Na
- Wast Concentrat - deseu rezultat dupa spalare

5 ACTIUNI PREALABILE

5.1 Recoltarea si transportul probelor biologice cf. PGL-5.4 -1, Manualul de recoltare a probelor primare. Managementul probelor
5.2 Pregatirea analizorului cf. IL – 02.
5.3 Determinarea in prealabil a analitilor care intra in formula de calcul

6 CALIBRARE SI CONTROL PENTRU ANALIZORUL AUTOMAT DE BIOCHIMIE

Se descrie trasarea curbelor de calibrare pentru toti analiţii de determinat, folosind soluţii de concentraţii exacte şi verificarea etalonării prin control de calitate pe două nivele: normal şi patologic;
Se aplica tuturor testelor cantitative din meniul de lucru;

6.1 Principiul metodei

- Citiri fotometrice repetate ale extincţiilor la diferite concentraţii ale standardului şi trasarea cu aceste valori a câte unei curbe de concentraţie = f(extincţie) pentru fiecare analit în parte. Domeniul de liniaritate al curbei reprezintă zona în care există o proporţionalitate între extincţie şi concentraţia analitului în probă.

6.2 Cerinţe obligatorii:

Calibrarea se efectuează:
- la schimbarea lotului de reactiv, sau a tehnicii de dozare.
- la schimbarea tipului de reactiv.
- ori de câte ori nu este validat un control de calitate - după calibrare se reia controlul de calitate.

- de fiecare data dupa ce se executa service la analizor.

Controlul de calitate se efectuează
- zilnic şi după fiecare calibrare.

6.3 Mod de lucru
- Se reconstituie calibratorul şi controalele conform instrucţiunilor din prospect sau se decongelează un eşantion din soluţia de calibrator şi control.
- Se efectueaza operatiunile de lucru conform instructiunilor din manualul de operare.

7 EFECTUAREA DETERMINARILOR:

a. Metoda Cinetica: ASAT, ALAT, UREE, CREATININA, α – AMILAZA, GAMMA – GT, FOSFATAZA ALCALINA.

- **ALAT(ALT/GPT/TGP):**

Principiul reacţiei: ALT catalizează transferul grupării amino de pe alanină pe α-cetoglutarat cu formare de L-glutamat şi piruvat. Piruvatul format oxidează NADH la NAD prin reacţia catalizată de LDH. Scăderea extincţiei la 340 nm ca măsură a oxidării NADH este direct proporţională cu rata de formare a piruvatului şi în consecinţă cu activitatea ALT.
Referinte: Tehnica este adaptată după metoda de referinţă IFCC fără activare cu piridoxal 5 fosfat.
Standardizare: Tehnica pentru dozarea ALT a fost standardizata fata de metoda IFCC originala.
Condiţii de reacţie
- lungimea de undă: 340 nm.
- temperatura: 37^0 C.
- volume reactivi pipetate manual: 4Ra + 1Rb pentru realizarea reactivului de lucru;
- volume pipetate automat: reactiv de lucru 300µl, proba 30µl, solutie de spalare 1200 µl.

Precauţiuni
- proba = ser sau plasmă recoltată pe EDTA sau heparină;
- probele sunt stabile 4 zile la 2 - 8^0 C, o luna la -20^0 C sau 24 ore la 20 - 25^0 C, fără modificarea activităţii enzimatice;
- nu s-au observat interferenţe semnificative ale probelor icterice (valori până la 20 mg/dl ale bilirubinei) si lipemice (valori până la 500 mg/dl ale trigliceridelor serice);
- hemoliza produce o creştere a valorilor ALT datorită activităţii ALT eritrocitare eliberate în probă.

Preparare reactivi
Reactivul de lucru se prepara respectand proportia de 4ml Ra cu 1ml Rb solutie tampon, si este valabil 60 de zile pastrat la 2 ± 8 º C.

Mod de lucru:
- conform IL – 02, Instructiuni de lucru analizor biochimie

In cazul valorilor ce depaşesc limita tehnică a analizorului pentru acest tip de reactiv: (4 - 440 U/l), se reia testarea cu proba diluată cu 0,9% NaCl sau apă distilată/deionizată iar la elaborarea rezultatului se va ţine cont de factorul de diluţie;

Valori biologice de referinta
- bărbaţi: 0 – 40 U/l
- femei: 0 – 35 U/l

Semnificatie clinica: Valori crescute ale ALT pot indica: infarct miocardic, afectiuni hepatice sau distrofie musculara. Cresterea valorilor serice al ALT confirma o afectiune a parenchimului hepatic.

- ASAT(AST/GOT/TGO):

Principiul reacţiei : AST catalizează transferul grupării amino de pe L-aspartat pe α-cetoglutarat cu formare de L-glutamat şi oxaloacetat. Oxaloacetatul format oxidează NADH la NAD prin reacţia catalizată de MDH. Scăderea extincţiei la 340 nm ca măsură a oxidării NADH este direct proporţională cu rata de formare a oxaloacetatului şi în consecinţă cu activitatea AST.

Referinte: Tehnica este adaptată după metoda de referintă IFCC fără activare cu piridoxal 5 fosfat.

Standardizare: Tehnica pentru dozarea AST a fost standardizata fata de metoda IFCC originala.

Condiţii de reacţie:
- lungimea de unda: 340 nm.
- temperatura: 37^0 C;
- volume reactivi pipetate manual: 4Ra + 1Rb pentru realizarea reactivului de lucru;
- volume pipetate automat: reactiv de lucru 300µl, proba 25µl, solutie de spalare 1200µl.

Precauţiuni:
- proba = ser sau plasmă recoltată pe EDTA sau heparină;
- probele sunt stabile 4 zile la 2 - 8^0 C, o luna la -20^0 C sau 24 ore la 20 - 25^0 C – fără modificarea activităţii enzimatice;
- nu s-au observat interferenţe semnificative ale probelor icterice (valori până la 25 mg/dl ale bilirubinei) si lipemice (valori până la 500 mg/dl ale trigliceridelor serice);
- hemoliza produce o creştere a valorilor AST prin activitatea AST eritrocitare eliberate în probă.

Preparare reactivi:

Reactivul de lucru se prepara respectand proportia de 4ml Ra cu 1ml Rb solutie tampon, si este valabil 60 de zile pastrat la 2 ± 8 º C.

Mod de lucru:

- conform IL - 01 Instructiuni de lucru analizor biochimie

In cazul valorilor ce depaşesc limita tehnică a analizorului pentru acest tip de reactiv: (4 - 440 U/l), se reia testarea cu proba diluată cu 0,9% NaCl sau apă distilată/deionizată iar la elaborarea rezultatului se va ţine cont de factorul de diluţie;

Valori biologice de referinta
- bărbaţi: 0 – 40 U/l
- femei: 0 – 35 U/l

Semnificatie clinica: Valori crescute ale AST pot indica: infarct miocardic, afectiuni hepatice sau distrofie musculara.

- CREATININA

Principiul reacţiei: Creatinina formează cu picratul în soluţie alcalină un complex colorat galben. Intensitatea culorii este direct proporţională cu concentraţia creatininei şi poate fi măsurată fotometric la 500 ± 20nm. Interferentele sunt minimizate datorita cuplajului realizat intre surfactanti si tetraboratul de sodiu.

Referinte: Tehnica se bazeaza pe reactia Jaffe (asa cum a fost descrisa de Popper si colaboratorii, Seeling si Wust) modificata de Bartels pentru o mai buna sensibilitate si precizie.

Standardizare: Metoda a fost standardizata fata de ID-MS si MPR.

Conditii de reactie:
- lungimea de undă: 505 nm
- temperatura: 37^0 C
- volume reactivi pipetate manual: 1Ra + 1Rb pentru realizarea reactivului de lucru;
- volume pipetate automat: reactiv de lucru 300µl, proba 30µl, solutie de spalare 1200µl

Precauţiuni:
- proba = ser, plasmă recoltată pe heparină sau EDTA, urină emisă spontan sau urina colectată pe 24 ore;
- probele de ser/plasmă sunt stabile: 7 zile la 2 - 8^0 C, iar cele de urină 4 zile la 2 - 8^0 C; probele de urină sunt automat diluate pe analizor înaintea testării 1:100 prin adăugare de ser fiziologic, apă distilată sau apă deionizată. Analizorul va tine cont de această diluţie la calculul rezultatului.
- nu s-au observat interferenţe semnificative ale probelor icterice (valori până la 7 mg/dl ale bilirubinei), lipemice (valori pana la 600mg/dl a trigliceridelor serice) sau hemolizate (valori până la 200 mg/dl a hemoglobinei).
- antibioticele care conţin cefalosporine pot influenţa valorile obţinute;

Preparare reactivi
- reactivii din trusă sunt: R1şi R2, gata de lucru.
- reactivul de lucru se prepara respectand proportia de 1ml R1 cu 1ml R2 si este valabil 30 de zile pastrat la 15 – 25º C inchis ermetic departe de orice sursa directa.

Mod de lucru: conform IL - 01 Instructiuni de lucru analizor biochimie
- în cazul valorilor ce depaşesc limita tehnică a analizorului pentru acest tip de reactiv: 0,2 - 20 mg/dl în ser şi 0,2 – 650 mg/dl în urină, se reia testarea cu proba diluată cu 0,9% NaCl sau apă distilată/deionizată iar la elaborarea rezultatului se va ţine cont de factorul de diluţie.

Valori biologice de referinta ,
- in ser:

- bărbaţi: 0,70 – 1,20 mg/dl (62 – 105 µmol/l)
- femei: 0,60 – 1,10 mg/dl (53 – 97 µmol/l)

Semnificatie clinica: Determinarea creatininei este utila in diagnosticarea si monitorizarea afectiunilor renale cronice sau acute ca si in monitorizarea dializei renale.

- UREA

Principiul reacţiei: Ureea este hidrolizată sub acţiunea ureazei cu formare de amoniac şi CO_2. Amoniacul format reacţionează rapid cu α-cetoglutaratul şi NADH în prezenţa GLDH (glutamat dehidrogenazei) cu formare de glutamat şi NAD^+. Scăderea extincţiei cauzata de oxidarea NADH este masurata cinetic.

Referinte: Tehnica de dozare se bazeaza pe metoda GLDH/UV.

Standardizare: Metoda a fost standardizata fata de SRM.

Conditii de reactie

- lungimea de undă: 340 nm
- temperatura: 37^0 C
- volume reactivi pipetate manual: 4Ra + 1Rb pentru realizarea reactivului de lucru;
- volume pipetate automat: reactiv de lucru 300µl, proba 30µl, solutie de spalare 1200µl

Precauţiuni:

- ser, plasmă recoltată pe heparinat de litiu, heparinat de sodiu sau EDTA,
- urină emisă spontan sau urina colectată pe 24 ore;
- nu se recomandă folosirea de plasmă recoltată pe heparinat de amoniu;
- ureea din ser sau plasma este stabila 7 zile la 2-8˚C si o lună la -25^0 C;
- ureea din urina este stabila pentru 3 zile la temperatura camerei daca este prevenita cresterea bacteriana.
- probele de urină sunt automat diluate pe analizor înaintea testării 1:50 prin adăugare de ser fiziologic, apă distilată sau apă deionizată. Analizorul va tine cont de această diluţie la calculul rezultatului.
- nu s-au observat interferenţe semnificative ale probelor icterice (valori până la 20 mg/dl ale bilirubinei), lipemice (valori pana la 1000mg/dl a trigliceridelor serice) sau hemolizate (valori până la 200 mg/dl a hemoglobinei); în cazurile foarte rare de gammapatie monoclonală, se pot obţine rezultate eronate;

Preparare reactivi

- reactivii din trusă sunt: R1şi R2, gata de lucru.
- volumele pot fi preparate respectand proportia: 4 ml reactiv A + 1 ml reactiv B.

Reactivul de lucru este stabil pentru 2 luni la 2-8˚C.

Mod de lucru: conform IL 01 Instructiuni de lucru analizor biochimie

- în cazul valorilor ce depaşesc limita tehnică a analizorului pentru acest tip de reactiv: 300 mg/dl (0,83 – 66,4 mmol/l), se reia testarea cu proba diluată cu 0,9% NaCl sau apă distilată/deionizată iar la elaborarea rezultatului se va ţine cont de factorul de diluţie; în caz de reanalizare (se foloseşte varianta increase/decrease în loc de standard la volumul de probă) domeniile sunt mult mai largi: până la 800 mg/dl (133 mmol/l) în ser şi până la 6 mg/dl (99,6 mmol/l) în urină;

Valori biologice de referinta
- ser: 10 – 50 mg/dl (1,7 – 8,3 mmol/l)

Semnificatie clinica: Determinarea ureei este cel mai frecvent utilizata in evaluarea functiei renale si impreuna cu determinarea creatininei pentru diagnosticul diferential al hiperuremiei prerenale (decompensare cardiaca, deshidratare,anurie, cresterea catabolismului proteic), al hiperuremiei renale (glomerulonefrita, nefrite cronice, rinichi polichistic, nefroscleroza si necroza tubulara) si al hiperuremiei postrenale (obstructia cailor renale).

- α-AMILAZA

Principiul reacţiei: Amilaza catalizeaza hidroliza 4-nitrofenil-maltoheptaozid-etildienei la oligozaharide mai mici care sunt apoi hidrolizate de α-glucozidaza, eliberand 4-nitrofenol. Concentraţia catalitica este determinata din rata de formare a 4-nitrofenolului, masurata la 405 nm.

Referinte: Metoda de referinta este IFCC.

Standardizare: Tehnica a fost standardizata fata de metoda IFCC.

Condiţii de reacţie:
- lungimea de unda: 405 nm.
- temperatura: 37^0 C
- reactivi pipetati manual: 4Ra + 1Rb pentru realizarea reactivului de lucru;
- volume pipetate automat: reactiv de lucru 300µl, proba 9µl, solutie de spalare 1200µl

Precauţiuni:
- proba = ser sau plasmă recoltată pe EDTA şi heparinat de Li, Na sau NH_4;
- proba = urină;
- probele de ser sau plasmă sunt stabile o lună la 2 - 8^0C; valorile obţinute în cazul în care proba este plasmă recoltată pe EDTA sunt cu 5 -10% mai mici decât în ser.
- probele de urină trebuie colectate fără aditivi şi sunt stabile două zile la 20 - 25^0C sau o luna la 2 - 8^0C. α-amilaza este instabilă în urina acidă, ca urmare probele trebuie analizate rapid sau pH – ul trebuie ajustat în jurul valorii de pH = 7 înainte ca proba să fie conservată pentru o analizare ulterioară.
- nu s-au observat interferenţe semnificative ale probelor icterice (valori până la 20 mg/dl ale bilirubinei), lipemice (trigliceride pana la 10g/l) şi hemolizate (valori până la 10g/l ale hemoglobinei);
- s-au raportat interferenţe date de anticoagulanţi ca citratul şi florurile.

Preparare reactivi
- reactivii din trusa sunt: R1şi R2, gata de lucru.
- volumele pot fi preparate respectand proportia: 4 ml reactiv A + 1 ml reactiv B.

Reactivul de lucru este stabil pentru 20 de zile la 2-8˚C.

Mod de lucru: Conform IL – 02, Instructiuni de lucru analizor biochimie

- în cazul valorilor ce depaşesc limita tehnică a analizorului pentru acest tip de reactiv: 1300 U/l, se reia testarea cu proba diluată cu 0,9% NaCl sau apă distilată/deionizată iar la elaborarea rezultatului se va ţine cont de factorul de diluţie;

Valori biologice de referinta:
- ser: 28 – 100 U/l
- urină
  - eşantion din urina de dimineaţă ≤ 460 U/l
  - urina din 24 ore: ≤ 410 U/24h
- raport α-amilază/creatinină ≤ 310 U/g
- ACCR (%) ≈ 2 – 5%;
- (ACCR = raport α-amilază/clearance creatinină * 100)

Semnificatie clinica: : Determinarea amilazei este utila in diagnosticarea si tratamentul afectiunilor pancreatice in special al pancreatitelor acute. Valori crescute ale amilazei se mai intalnesc in pancreatite cronice, insuficienta renala, tumori pulmonare si ovariene, inflamatie pulmonara, afectiuni ale glandelor salivare, cetoacidoza diabetica, traumatism cerebral, interventie chirurgicala sau in cazul macroamilazemiei.

- **α-AMILAZA FL**

Principiul reacţiei: Amilaza catalizeaza hidroliza 4-nitrofenil-maltoheptaozid-etildienei la oligozaharide mai mici care sunt apoi hidrolizate de α-glucozidaza, eliberand 4-nitrofenol. Concentraţia catalitica este determinata din rata de formare a 4-nitrofenolului, masurata la 405 nm.
Referinte: Metoda de referinta este **CNP - G3**.
Standardizare: Tehnica a fost standardizata fata de metoda **CNP - G3**.
Condiţii de reacţie:
- lungimea de unda: 405 nm.
- temperatura: 37^0 C
- reactivi pipetati manual: 1A gata de lucru;
- volume pipetate automat: reactiv de lucru 300µl, proba 9µl, solutie de spalare 1200µl.

Precauţiuni:
- proba = ser sau plasmă recoltată pe EDTA şi heparinat de Li, Na sau NH_4;
- proba = urină;
- probele de ser sau plasmă sunt stabile doua luni la 2 - 8^0C; valorile obţinute în cazul în care proba este plasmă recoltată pe EDTA sunt cu 5 -10% mai mici decât în ser.
- nu s-au observat interferenţe semnificative ale probelor icterice (valori până la 50 mg/dl ale bilirubinei), lipemice (trigliceride pana la 1000mg/dl) şi hemolizate (valori până la 300mg/dl ale hemoglobinei);

Preparare reactivi
- reactivul din trusa este: R1 gata de lucru.

Reactivul de lucru este stabil pentru 60 de zile la 2-8˚C.

Mod de lucru: Conform IL – 02, Instructiuni de lucru analizor biochimie

- în cazul valorilor ce depaşesc limita tehnică a analizorului pentru acest tip de reactiv: 3000 U/l, se reia testarea cu proba diluată cu 0,9% NaCl sau apă distilată/deionizată iar la elaborarea rezultatului se va ţine cont de factorul de diluţie;

Valori biologice de referinta:
- ser/plasmă : <96 U/l
- urină: < 480 U/l

Semnificatie clinica: : Determinarea amilazei este utila in diagnosticarea si tratamentul afectiunilor pancreatice in special al pancreatitelor acute. Valori crescute ale amilazei se mai intalnesc in pancreatite cronice, insuficienta renala, tumori pulmonare si ovariene, inflamatie pulmonara, afectiuni ale glandelor salivare, cetoacidoza diabetica, traumatism cerebral, interventie chirurgicala sau in cazul macroamilazemiei.

- FOSFATAZA ALCALINA SERICA

Principiul reacţiei: Fosfataza alcalina hidrolizeaza cu 4-NPP (nitrofenilfosfat) in mediu alcalin eliberand 4-nitrofenol. 4-nitrofenolul format este determinat spectrofotometricmetric la 405 nm pentru a masura activitatea fosfatazei alcaline din proba.

Referinte: Metoda de referinta este DGKC.
Standardizare: Tehnica a fost standardizata fata de metoda DGKC.
Condiţii de lucru:
- lungimea de unda: 405nm
- temperature: 37^0 C
- reactivi pipetate manual: 4Ra + 1Rb pentru realizarea reactivului de lucru;
- volume pipetate automat: reactiv de lucru 300µl, proba 6µl, solutie de spalare 1200µl.

Precautiuni:
- se supun analizei doar serurile nehemolizate;
- probele de ser pot fi depozitate la 2 - 8^0 C, si lucrate in interval de două zile;
- serurile tinute la temperatura camerei prezinta o usoara crestere a activitatii care poate varia de la 1%, pentru o perioada de 6 ore, pana la 3-6% pentru o perioada de 1-4 zile.
- plasma nu trebuie folosită ca proba deoarece agenţii anticoagulanţi inhibă activitatea fosfatazei alcaline;
- nu s-au constatat interferente in prezenta hemoglobinei (valori de pana la 400 mg/dl), bilirubinei (de pana la 40 mg/dl) si lipidelor (valori de pana la 900 mg/dl a trigliceridelor serice).

Preparare reactivi
- reactivii din trusă sunt gata de folosire R1 si R2
- volumele pot fi preparate respectand proportia: 4 ml reactiv A + 1 ml reactiv B

Mod de lucru: Conform IL - 01 Instructiuni de lucru analizor biochimie
- în cazul valorilor ce depaşesc limita tehnică a analizorului pentru acest tip de reactiv (1000 U/l), se reia testarea cu proba diluată cu ser fiziologic iar la elaborarea rezultatului se va ţine cont de factorul de diluţie;

Valori biologice de referinta
- **Copii:**

0 - 1 an < 462 U/l,
1 – 6 ani < 269 U/l,
7 – 12 ani < 300 U/l,
13 – 17 ani:
- fete < 187 U/l
- băieţi < 391 U/l

- **Adulţi:**
Bărbaţi: < 270 U/l
Femei: < 240 U/l

Semnificatie clinica: Cresterea valorilor fosfatazei alcaline apare in toate formele de colestaza, in special in icterul obstructive. Valorile fosfatazei alcaline sunt crescute de asemenea in afectiunile osoase cum ar fi boala Paget, hiperparatiroidism, osteomalacie, fracturi asociate unor tumor maligene.

- GAMMA GT(gama glutamiltransferazei):
Principiul reacţiei - gamma glutamil transferaza catalizează transferul unei grupări gamma glutamil de pe L–gamma-glutamil-3-carboxi-4-nitoanilina pe glicilglicina cu formare de L-gamma-glutamil-glicilglicina şi 5-amino-2-nitrobenzoat. Creşterea valorii absorbanţei este în corelaţie cu formarea 5-amino-2-nitrobenzoatului şi este direct proporţională cu activitatea gamma glutamiltransferazei.

Referinte: In conformitate cu recomandările IFCC.
Standardizare: Tehnica a fost standardizata fata de metoda manuala IFCC.
Conditii de lucru:
- lungimea de unda: 405 nm
- temperatura: 37^0 C
- reactivi pipetati manual: 4Ra + 1Rb pentru realizarea reactivului de lucru;
- volume pipetate automat: reactiv de lucru 300µl, proba 30µl, solutie de spalare 1200µl.

Precauţiuni
- proba = ser sau plasmă recoltată pe EDTA sau heparină;
- probele sunt stabile cinci zile la 2 - 8^0 C.
- nu s-au observat interferenţe semnificative ale probelor icterice (valori până la 10 g/l ale bilirubinei), hemolizate (valori până la 5g/l ale hemoglobinei) si lipemice (valori până la 4g/l ale trigliceridelor serice);

Preparare reactivi
- reactivii din trusă sunt gata de folosire R1 si R2
- volumele pot fi preparate respectand proportia: 4 ml reactiv A + 1 ml reactiv B
- stabil pentru 2 luni la 2-8°C.

Mod de lucru: Conform IL – 02, Instructiuni de lucru analizor biochimie
- în cazul valorilor ce depaşesc limita tehnică a analizorului pentru acest tip de reactiv: 300 U/l, se reia testarea cu proba diluată cu 0,9% NaCl sau apă distilată/deionizată iar la elaborarea rezultatului - se va ţine cont de factorul de diluţie;

Valori biologice de referinta:

- **barbati:** < 55 U/l
- **femei**: < 38 U/l

Semnificatie clinica: Gama glutamiltransferaza se gaseste in concentratii mari in ficat, in tubulii renali si in intestine, desi este prezenta si in alte tesuturi cum ar fi pancreasul, prostata, glandele salivare, veziculele seminale, creier si inima. Determinarea GGT – ului este utila in diagnosticarea si tratamentul afectiunilor hepatobiliare fiind un test screening foarte sensibil in cazurile de alcoolism.

Activitatea GGT este crescuta in oricare si in toate formele de afectare hepatica, cele mai crescute valori aparand in cazul obstructiei biliare intra sau post hepatice.Niveluri crescute sunt de asemenea observate la pacientii cu neoplasm metastazat al ficatului si in tratament cu phenobarbital si phenitoin. In pancreatita si anumite afectiuni ale pancreasului, activitatea enzimei poate fi moderat crescuta.

c. METODA COLORIMETRICĂ ENZIMATICĂ: COLESTEROL FL, HDL – COLESTEROL FL, LDL - COLESTEROL

- COLESTEROL *FL*

Principiul reacţiei: Colesterolul este determinat enzimatic folosind colesterol esterază şi colesterol oxidază. Esterii de colesterol sunt clivaţi sub acţiunea colesterol esterazei cu formare de colesterol şi acizi graşi. Colesterolul format este convertit la colesterol-4-en-3-onă şi peroxid de hidrogen sub acţiunea colesterol oxidazei şi în prezenţa O_2. Peroxidul de hidrogen produs reacţionează cu 4-aminofenazona şi fenolul formând sub acţiunea peroxidazei un complex colorat: 4-(p-benzoquinona-monoimino)-fenazona. Intensitatea culorii este direct proporţională cu concentraţia colesterolului în probă şi se masoara fotometric.

Referinte: Metoda de referinta este CHOD-PAP

Standardizare: Metoda a fost standardizata fata NCEP.

Condiţii de reacţie:

- lungimea de undă: 505/670 nm
- temperatura: 37^0 C.
- volume pipetate automat: reactiv de lucru 300µl, proba 3µl, solutie de spalare 1200µl.

Precauţiuni:

- proba = ser, plasmă recoltată pe EDTA; nu se foloseşte în determinări plasmă recoltată pe citrat, oxalat sau florură.
- probele de ser/plasmă sunt stabile: 3 zile la 2 - 8^0C sau 30 de zile la - 20^0 C;
- nu s-au observat interferenţe semnificative ale probelor icterice (valori până la 15 mg/dl ale bilirubinei), lipemice (valori ale concentraţiei trigliceridelor de până la 850 mg/dl) sau hemolizate (valori ale concentraţiei hemoglobinei de până la 500 mg/dl).

Preparare reactivi

- reactivi R1 gata de lucru, valabil sigilat pana la data expirarii indicata pe eticheta si 60 de zile, pastrat la 2 - 8^0C de la prima deschidere a flaconului.

Mod de lucru: conform IL – 02, Instructiuni de lucru analizor biochimie

- în cazul valorilor ce depaşesc limita tehnică a analizorului pentru acest tip de reactiv în ser: 700 mg/dl se reia testarea cu proba diluată cu 0,9% NaCl sau apă distilată/deionizată iar la elaborarea rezultatului se va ţine cont de factorul de diluţie;

Valori biologice de referinta
Ser: 140 - 220 mg/dl
Semnificatie clinica: Determinarea colesterolului este folosita ca screening in depistarea riscului arteriosclerozei, in diagnosticul si tratamentul afectiunilor ce implica nivele crescute ale colestrolului seric si in dereglari ale metabolismului lipidelor si lipoproteinelor.

- HDL-COLESTEROL *FL* - direct, LDL-COLESTEROL *FL* - direct
Principiul reacţiei: Colesterolul din lipoproteinele cu densitate scazuta(LDL) si foarte scazuta (VLDL) si chilomicronii sunt eliminati de colesterol-oxidaza printr-o reactie enzimatica accelerata, fara virarea culorii. Detergentul prezent in reactivul B solubilizeaza colesterolul din lipoproteinele cu densitate mare(HDL) din proba, care poate fi masurat spectrofotometric la o lungime de unda de 600nm..
Referinte: Metoda cu anioni policiclici a fost descrisa de Warnick GR Nauck M, Rifai N. si confirmata de Tietz NW. Clinical guide to laboratory tests, 2nd ed. Saunders Co, 1991.
Standardizare: Fata de metoda de referinta NCEP in corelare cu rezultatele obtinute prin metoda precipitarii si ultracentrifugare – precipitare cu dextran.
Condiţii de reacţie:
- lungimea de undă: 600 nm.
- temperatura: 37^0 C
- volume de reactivi pipetate automat: R1= 210µl; R2= 70 µl; proba = 3 µl; solutie de spalare1200µl.

Precauţiuni:
- proba = ser.
- se recomanda ca determinarea concentraţiei de HDL-Colesterol si LDL-Colesterol sa fie efectuata imediat după recoltare.
- nu s-au observat interferenţe semnificative ale probelor icterice (valori până la 50 mg/dl ale bilirubinei libere şi 40 mg/dl ale bilirubinei conjugate), lipemice (valori ale concentraţiei trigliceridelor de până la 850 mg/dl) sau hemolizate (valori ale concentraţiei hemoglobinei de până la 500 mg/dl).
- acidul ascorbic în concentraţii < 50 mg/dl nu interferă cu dozarea HDL-colesterolului si LDL-Colesterolului.
Preparare reactivi
- reactivii din trusă sunt: R1şi R2, gata de lucru, valabili sigilati pana la data expirarii indicata pe eticheta si 60 de zile, pastrati la 2 - 8^0C de la prima deschidere a flaconului.

Mod de lucru: conform IL -01 Instructiuni de lucru analizor biochimie
- în cazul valorilor ce depaşesc limita tehnică a analizorului pentru acest tip de reactiv în ser: 220 mg/dl, respectiv 990 mg/dl se reia testarea cu proba diluată cu 0,9% NaCl sau apă distilată/deionizată iar la elaborarea rezultatului se va ţine cont de factorul de diluţie

Valori biologice de referinta
HDL
Barbati: 35 - 80 mg/dl
Femei: 42 – 88 mg/dl

LDL
<120 mg/dl

Semnificaţie clinica: Monitorizarea concentraţiei HDL/LDL – colesterolului seric este importanta datorita corelatiei care exista intre aceasta si riscul de arterioscleroza. Nivelurile plasmatice scăzute de HDL-colesterol sunt corelate in mod pozitiv cu incidenta crescuta a afecţiunilor aterosclerotice, baza infarctului miocardic si a accidentelor vasculare cerebrale.
Sunt cateva afectiuni bazate pe influente de mediu si asociate cu niveluri reduse de HDL-colesterol: afecţiuni hepatocelulare acute sau cronice, hiperalimentare intravenoasa, malnutritie severa, diabet, anemie cronica, afectiuni mieloproliferative, boala Tangier, analfalipoproteinemia, stres acut, anumite medicamente si fumatul.

d. METODA COLORIMETRICĂ: CALCIU *ASX,* MAGNEZIU *XL,* FIER- *FERROZINE,* GLUCOZA, TRIGLICERIDE *FL,* BILIRUBINA TOTALA, BILIRUBINA DIRECTA, PROTEINE TOTALE, ACID URIC.

- CALCIU *ASX*
Principiul reacţiei: Arsenazo (III) se combina cu calciul intr-un mediu usor acid formand un complex albastru-violet a carui absorbanta este masurata la 670 nm. Intensitatea culorii este direct proporţională cu concentraţia calciului şi poate fi măsurată fotometric.
Referinte: Metoda cu arsenazo III.
Standardizare: Metoda standardizata fata Tietz NW. Clinical guide to laboratory tests, 2nd ed. Saunders Co, 1994.
Condiţii de reacţie:
- lungimea de undă: 670 nm.
- temperatura: 37^0 C
- volume pipetate automat: reactiv de lucru 300µl, proba 3µl, solutie de spalare 1200µl.

Precauţiuni:
- proba = ser, plasmă recoltată pe heparină sau urină colectată pe 24 ore;
- nu se recomandă plasmă recoltata pe EDTA, citrat sau oxalat.

- calciul total este stabil: 7 zile la 2 - 8^0C si inghetat la -20^0C timp de cateva luni; în cazul urinii recoltate pe 24 ore fie se introduc 10 ml HCl (6 mmol/l) în recipientul de colectare fie se acidifică urina după recoltă (pH<2) cu scopul dizolvării sărurilor de calciu; eşantioanele de urină care conţin precipitat trebuie centrifugate înainte de a fi analizate;
- nu s-au observat interferenţe semnificative ale probelor icterice (valori până la 40 mg/dl ale bilirubinei), lipemice sau hemolizate (valori până la 300 mg/dl a hemoglobinei).

Preparare reactivi
- reactivi R1 gata de lucru, valabil sigilat pana la data expirarii indicata pe eticheta si 60 de zile, de la prima deschidere a flaconului pastrat la 15 - 25^0C .

- flaconul deschis la bordul aparatului necesită dispozitive pentru reducerea suprafeţei în contact cu aerul (chimneys) pentru a împiedica absorbţia de CO_2 fapt ce ar diminua stabilitatea calibrării;

Mod de lucru: Conform IL -02, Instructiuni de lucru analizor biochimie

- în cazul valorilor ce depaşesc limita tehnică a analizorului pentru acest tip de reactiv: 20 mg/dl (7 mmol/l) în ser se reia testarea cu proba diluată cu 0,9% NaCl sau apă distilată/deionizată iar la elaborarea rezultatului se va ţine cont de factorul de diluţie.

Valori biologice de referinta

Ser: 8,50 – 10,50 mg/dl (2,15 – 2,55 mmol/l)

Urină din 24 ore:100 – 300 mg/24h (2,5 – 7,5 mmol/l)

Semnificatie clinica: Hipocalcemia este provocata de absenta sau defectul de functionare al paratiroidei sau de deficitul de sinteza de vitamina D. Hipercalcemia este cauzata de cresterea mobilizarii depozitelor de calciu din oase (osteoporoza) sau de de cresterea absorbtiei intestinale de calciu.

- MAGNEZIU *XL*

Principiul reacţiei: Magneziul formează împreună cu xilidil blue în soluţie alcalină un complex colorat purpuriu: o sare de diazoniu. Concentraţia magneziului este determinată fotometric ca o măsură a scăderii absorbanţei dată de xilidil blue.

Referinte: Metoda cu xylidyl-blau.

Standardizare: Metoda standardizata fata Tietz NW. Clinical guide to laboratory tests, 2nd ed. Saunders Co, 1994.

Conditii de lucru:

- lungimea de undă: 535nm
- temperatura: 37^0 C
- volume pipetate automat: reactiv de lucru 300µl, proba 4µl, solutie de spalare 1200µl.

Precauţiuni:

- proba = ser, plasmă recoltată pe heparinat de litiu sau urină colectată pe 24 ore;
- probele de ser/plasmă sau urină sunt stabile: 7 zile la 2 - 8^0C;
- în cazul urinii recoltate pe 24 ore se recomandă colectarea acesteia într-un recipient nemetalic, fără adaugare de conservanţi; se acidifică urina după recoltă până la pH≈1; eşantioanele de urină care conţin precipitat trebuie centrifugate înainte de a fi analizate; probele de urină sunt diluate cu NaCl 0,9%, apă distilată sau apă deionizată în proporţie de 1/2, iar la elaborarea rezultatului se ia în calcul diluţia.
- nu s-au observat interferenţe semnificative ale probelor icterice (valori până la 43 mg/dl ale bilirubinei), lipemice (valori ale concentraţiei trigliceridelor de până la 1100 mg/dl); serurile hemolizate nu se supun analizei datorită interferenţelor date de magneziul eliberat din hematii;

Preparare reactivi

- reactivi R1 gata de lucru, valabil sigilat pana la data expirarii indicata pe eticheta si 60 de zile, de la prima deschidere a flaconului pastrat la 2 - 8^0C .
- flacoanele deschise la bordul aparatului necesită dispozitive pentru reducerea suprafeţei în contact cu aerul (chimneys) cu scopul de a împiedica absorbţia de CO_2 ce ar diminua stabilitatea calibrării;

Mod de lucru: Conform IL - 01 Instructiuni de lucru analizor biochimie

- în cazul valorilor ce depaşesc limita tehnică a analizorului pentru acest tip de reactiv: 7,5mg/dl în ser şi 0,07 – 26,73 mg/dl (0,03 – 11 mmol/l) în urină, se reia testarea cu proba diluată cu 0,9% NaCl sau apă distilată/deionizată iar la elaborarea rezultatului se va ţine cont de factorul de diluţie;

Valori biologice de referinta

- Ser: 1,58 – 2,55 mg/dl; (0,65 – 1,05 mmol/l)
- Urina din 24 ore: 60 – 210 mg/24h; (2,50 – 8,50 mmol/24h)

Semnificatie clinica: HIpomagnezemia este asociata cu afectiuni cardiace, neuromusculare sau neuropsihice. Hipermagnezemia este intalnita in afectiuni renale acute si cronice, exces de magneziu sau eliberare de magneziu in exces din spatiul intracelular.

- FIER - ***FERROZINE***

Principiul reacţiei: În mediu acid (pH < 2), fierul este eliberat din complexul fier-transferină. Probele lipemice sunt clarifiate de detergentul din reactiv. Ascorbatul reduce ionii de fier de la Fe^{3+} la Fe^{2+}, ioni care vor reacţiona cu Ferrozine pentru a forma un complex colorat. Intensitatea culorii complexului este direct proporţională cu concentraţia fierului în probă şi poate fi măsurată fotometric.

Referinte: Se bazeaza pe metoda cu ferrozina.

Standardizare: Metoda standardizata fata Tietz NW. Clinical guide to laboratory tests, 2nd ed. Saunders Co, 1994.

Condiţii de reacţie:

- lungimea de undă: 560 nm
- temperatura: 37^0 C
- volume de reactivi pipetate automat: R1= 240µl; R2= 60 µl; proba = 40; solutie de spalare1200µl.

Precauţiuni:

- proba = ser, plasmă recoltată pe heparină; în plasma obţinută pe EDTA sau oxalat sau observat valori scăzute ale fierului;
- separaţi serul sau plasma de pe depozitul de hematii lîn interval de 1 oră de la recoltă;
- probele (ser/plasmă) sunt stabile 7 zile la 2 - 8^0 C;
- nu s-au observat interferenţe semnificative ale probelor icterice (valori până la 20 mg/dl ale bilirubinei), lipemice (valori până la 10 g/l ale trigliceridelor); concentraţii mari ale hemoglobinei pot conduce la valori fals crescute ale sideremiei ca urmare a contaminării probei cu fierul legat de hemoglobină;
- în cazurile pacienţilor trataţi cu deferoxamină, medicamentul are capacitatea de a lega ionii de fier care nu vor mai participa la reacţii rezultând astfel concentraţii fals scăzute de fier;

Preparare reactivi

- R1şi R2 sunt gata de lucru;
- reactivii se depozitează la 2 - 8^0 C şi sunt valabili până la data expirării înscrisă pe flacoane, protejaţi de efectul luminii şi respectându-se normele ce împiedică contaminarea microbiană; R1 şi R2 **-** 28 zile pentru flacoanele deschise la bordul aparatului.

Mod de lucru: conform IL – 02, Instructiuni de lucru analizor biochimie

- în cazul valorilor ce depaşesc limita tehnică a analizorului pentru acest tip de reactiv în ser: 1000 µg/dl (179 µmol/l), se reia testarea cu proba diluată cu 0,9% NaCl sau apă distilată/deionizată iar la elaborarea rezultatului se va ţine cont de factorul de diluţie;

Valori biologice de referinta

- Bărbaţi: 9 – 30 µmol/l
- Femei: 7 – 30 µmol/l

Semnificatie clinica: Determinarea fierului este utila in diagnosticarea si tratamentul anemiei feriprive, hemocromatoza, afectiuni renale cronice, anemie microcitara, macrocitara si normocitara, anemie hemolitica si hemoglobinopatii, afectiuni ale maduvei osoase. Fierul seric este crescut in hemocromatoza, in intoxicatiile acute cu fier, in ciroza activa sau hepatita acuta si ca rezultat al nivelurilor crescute de transferina.

- GLUCOZA

Principiul reacţiei: glucoza este oxidata de glucozoxidaza in prezenta oxigenului cu formare gluconolactona si peroxoid de hidrogen. Peroxidul de hidrogen format oxideaza 4 – aminofenazona si fenolul cu formare de 4 – (p – benzochinona – monoimino) – fenazona in prezenta peroxidazei (POD). Intensitatea culorii complexului colorat rosu este direct proporţională cu concentraţia glucozei în probă şi poate fi măsurată fotometric.

Referinta: Determinare bazata pe metoda GOD-PAP.

Standardizare: Metoda standardizata fata Tietz NW. Clinical guide to laboratory tests, 2nd ed. Saunders Co, 1991.

Conditii de reacţie

- lungimea de unda: 505/670 nm
- temperatura: 37^0 C
- volume de reactivi pipetate automat: R1 = 300 µl, proba = 3 µl, solutie de spalare 1200µl.

Precauţiuni:

- dupa 8 ore de la recoltare, se regaseste in proba valorarea initiala cu o eroare de ±10 %;
- probele pot fi: plasma recoltata pe EDTA, heparina, florura sau iodoacetat si serul;
- se supun analizei doar serurile nehemolizate;
- glucoza in ser sau plasma este stabila 5 zile la 2-8˚C sau 8 ore la 15 - 25^0C;
- valori de 10 mg/dl ale bilirubinei precum si hemoliza (hemoglobina de concentratie aprox. 3 g/l) sau turbiditatea crescuta a serului (trigliceride in concentratie de aproximativ 1,25g/l) au efect neglijabil asupra rezultatului.

Preparare reactivi, stabilitate reactivi

- standardul (S) si reactivul (A) sunt furnizati este gata de folosire.
- reactivii se depozitează la 2 - 8^0 C si sunt valabili pana la data expirării înscrisă pe flacoane, protejaţi de efectul luminii şi respectându-se normele ce împiedică contaminarea microbiană; dupa deschidere flaconul este valabil 60 de zile la 2 - 8^0 C;

Modul de lucru - conform IL - 01 Instructiuni de lucru analizor biochimie

- în cazul valorilor ce depaşesc limita tehnică a analizorului pentru acest tip de reactiv 500 mg/dl se reia testarea cu proba diluată cu ser fiziologic sau apa deionizata iar la elaborarea rezultatului se va ţine cont de factorul de diluţie; în caz de reanalizare.

Valori normale:

Ser/plasma (pe nemancate): 70 – 110 mg/dl

Adulti:
- 60 ani: 80 – 115 mg/dl
- 70 ani: 83 – 110 mg/dl
- copii : 60 – 110 mg/dl

Nou-nascuti:
- la termen: 30 – 90 mg/dl
- prematur: 25-80 mg/dl

Semnificatie clinica: Determinarea glucozei este utila in diagnosticarea si monitorizarea dereglarilor metabolismului carbohidratilor inluzind diabetul zaharat, hipoglicemia neonatala, hipoglicemia idiopatica si carcimom pancreatic.

- TRIGLICERIDE *FL*

Principiul reacţiei: Trigliceridele sunt hidrolizate sub acţiunea lipoprotein lipazei până la glicerol şi acizi graşi. Glicerolul format este transformat în glicerol-3-fosfat printr-o reacţie catalizată de glicerol kinază. Glicerol-3-fosfatul format este oxidat sub acţiunea glicerolfosfat oxidaza cu formare de dihidroxiaceton fosfat şi peroxid de hidrogen. Peroxidul de hidrogen produs reacţionează cu 4-aminofenazona şi 4-clorofenolul formând sub acţiunea peroxidazei un complex colorat roşu: 4-(p-benzoquinona-monoimino)-fenazona. Intensitatea culorii este direct proporţională cu concentraţia trigliceridelor în probă şi poate fi măsurată fotometric.

Referinţe: Determinare bazata pe metoda GPO-PAP.

Standardizare: Metoda standardizata fata Tietz NW. Clinical guide to laboratory tests, 2nd ed. Saunders Co, 1994.

Condiţii de reacţie:
- lungimea de undă: 505/670 nm
- temperatura: 37^0 C
- volume de reactivi pipetate automat: R1 = 300 µl, proba = 3 µl, solutie de spalare 1200µl.

Precauţiuni:
- proba = ser, plasmă recoltată pe EDTA; atunci cand plasma se recolteaza pe EDTA, valoarea plasmatica se inmulteste cu 1,3 pentru a fi in concordanta cu valoarea serica.
- probele se pot stoca:
  - la + 4^0C pana la 3 zile;
  - congelate la - 20^0C cateva saptamani;
- probele lipemice se recomanda a se aduce la + 37^0C si a se agita puternic inainte de utilizare;
- nu s-au observat interferenţe semnificative ale probelor icterice (valori până la 12 mg/dl ale bilirubinei), sau hemolizate (valori ale concentraţiei hemoglobinei de până la 500 mg/dl).

Preparare reactivi, stabilitate reactivi:
- standardul (S) si reactivul (A) sunt furnizati este gata de folosire.
- reactivii se depozitează la 2 - 8^0 C si sunt valabili pana la data expirării înscrisă pe flacoane, protejaţi de efectul luminii şi respectându-se normele ce împiedică contaminarea microbiană;
- dupa deschidere flaconul este valabil 60 de zile la 2 - 8^0 C;

Mod de lucru: conform IL – 02, Instructiuni de lucru analizor biochimie

- în cazul valorilor ce depaşesc limita tehnică a analizorului pentru acest tip de reactiv în ser: 1000 mg/dl (11,4 mmol/l) , se reia testarea cu proba diluată cu 0,9% NaCl sau apă distilată/deionizată iar la elaborarea rezultatului se va ţine cont de factorul de diluţie;

Valori biologice de referinta:

- ser 60 – 150 mg/dl;

Semnificatie clinica: Determinarea trigliceridelor este utila in diagnosticarea si tratamentul pacientilor cu diabet zaharat nefroza, afectiuni hepatice, dereglari ale metabolismului lipidic si in numeroase alte boli endocrine.

- BILIRUBINA TOTALA

Principiul reacţiei: În mediu acid bilirubina totală se cuplează de sarea de diazoniu a 2,5-diclorofenil având loc formarea unui complex colorat de azobilirubin. Intensitatea culorii complexului azo este direct proporţională cu concentraţia bilirubinei totale în probă şi poate fi măsurată fotometric.

Referinte: Metoda cu acid sulfanilic diazotat.

Standardizare: Metoda standardizata fata Tietz NW. Clinical guide to laboratory tests, 2nd ed. Saunders Co, 1994.

Condiţii de reacţie:

- lungimea de undă: 535 nm/670 nm
- temperatura: 37^0 C
- volume pipetate automat: reactiv de lucru 300µl, proba 30µl, solutie de spalare 1200µl.

Precauţiuni:

- proba = ser, plasmă recoltată pe heparină sau pe EDTA; .

bilirubina in ser este stabila pentru 2 zile la 2-8˚C, daca serul este protejat de lumina.

- probele lipemice dau interferernţe la dozare;
- nu s-au observat interferenţe semnificative ale probelor hemolizate (valori ale concentraţiei hemoglobinei de până la 10g/l) sau lipemice (valori ale concentraţiei trigliceridelor de pana la 5 mg/dl).

Preparare reactivi, stabilitate reactivi

- reactivi pipetati manual: 4Rat + 1Rb pentru realizarea reactivului de lucru;
- reactivii se depozitează la 15 - 25^0 C şi sunt valabili până la data expirării înscrisă pe flacoane, protejaţi de efectul luminii şi respectându-se normele ce împiedică contaminarea microbiană; reactivul de lucru este stabil pentru 20 zile la 2-8˚C.

Mod de lucru: conform IL - 01 Instructiuni de lucru analizor biochimie

- în cazul valorilor ce depaşesc limita tehnică a analizorului pentru acest tip de reactiv în ser: 15 mg/dl = 257 µmol/l se reia testarea cu proba diluată cu 0,9% NaCl sau apă distilată/deionizată iar la elaborarea rezultatului se va ţine cont de factorul de diluţie;

Valori biologice de referinta

- ser: 0 – 1,10 mg/dl (0 – 18,8 µmol/l)

Semnificatie clinica: Determinarea bilirubinei totale este folosita in diagnosticarea afectiunilor hepatice, depistarea unei anemii hemolitice si in evaluarea gravitatii icterelor.

- BILIRUBINA DIRECTA

Principiul reacţiei: Acidul sulfanilic diazotat, format în urma reacţiei de acidifiere a nitratului de sodiu cu acid sulfanilic, reacţionează cu bilirubina şi formează azobilirubină. Numai bilirubina conjugată reacţionează cu acidul sulfanilic diazotat. Intensitatea culorii complexului azo este direct proporţională cu concentraţia bilirubinei directe (conjugată) în probă şi poate fi măsurată fotometric.
Referinte: Metoda cu acid sulfanilic diazotat.
Standardizare: Metoda standardizata fata Tietz NW. Clinical guide to laboratory tests, 2nd ed. Saunders Co, 1994.
Condiţii de reacţie:
- lungimea de undă: 535 nm/670 nm
- temperatura: 37^0 C
- volume pipetate automat: reactiv de lucru 300µl, proba 30µl, solutie de spalare 1200µl.

Precauţiuni:
- proba = ser, plasmă recoltată pe heparină sau pe EDTA; .

bilirubina in ser este stabila pentru 2 zile la 2-8˚C, daca serul este protejat de lumina.
- probele lipemice dau interferernţe la dozare;
- nu s-au observat interferenţe semnificative ale probelor hemolizate (valori ale concentraţiei hemoglobinei de până la 10g/l) sau lipemice (valori ale concentraţiei trigliceridelor de pana la 5 mg/dl).

Preparare reactivi, stabilitate reactivi
- reactivi pipetati manual: 4Rad + 1Rb pentru realizarea reactivului de lucru;
- reactivii se depozitează la 15 - 25^0 C şi sunt valabili până la data expirării înscrisă pe flacoane, protejaţi de efectul luminii şi respectându-se normele ce împiedică contaminarea microbiană; reactivul de lucru este stabil pentru 20 zile la 2-8˚C.

Mod de lucru: conform IL - 02, Instructiuni de lucru analizor biochimie
- în cazul valorilor ce depaşesc limita tehnică a analizorului pentru acest tip de reactiv în ser: 15 mg/dl = 257 µmol/l se reia testarea cu proba diluată cu 0,9% NaCl sau apă distilată/deionizată iar la elaborarea rezultatului se va ţine cont de factorul de diluţie;

Valori biologice de referinta
Ser: 0 – 0,35 mg/dl (0 – 5,1 µmol/l)
Semnificatie clinica: Determinarea bilirubinei directe este folosita in diagnosticarea afectiunilor hepatice, depistarea unei anemii hemolitice si in evaluarea gravitatii icterelor.

- PROTEINE TOTALE
Principiul reacţiei: Proteinele din proba reactioneaza cu ionii de cupru (II) in mediu alcalin formand un complex colorat care poate fi masurat spectrofotometric.
Referinte: Metoda Biuret.
Standardizare: Metoda standardizata fata Tietz NW. Clinical guide to laboratory tests, 2nd ed. Saunders Co, 1999.
Condiţii de reacţie:
- lungimea de undă: 535 nm/670 nm
- temperatura: 37^0 C
- volume pipetate automat: reactiv de lucru 300µl, proba 4µl, solutie de spalare 1200µl.

Precauţiuni:

- ser sau plasma heparinizata recoltate prin proceduri standard. Stabila pentru 8 zile la 2-8˚C.
- nu s-au observat interferenţe semnificative ale probelor icterice (valori până la 20 mg/dl ale bilirubinei), lipemice sau hemolizate (valori ale concentraţiei hemoglobinei de până la 2,5 g/l); interferenţele ce pot apărea în cazul serurilor hemolizate se datorează faptului că hemoglobina se comporta ca proteină în această reacţie de dozare;

Preparare reactivi, stabilitate reactivi

- standardul (S) si reactivul (A) sunt furnizati este gata de folosire.
- reactivii se depozitează la 15 - 30^0 C si sunt valabili pana la data expirării înscrisă pe flacoane, protejaţi de efectul luminii şi respectându-se normele ce împiedică contaminarea microbiană;

Mod de lucru: conform IL - 01 Instructiuni de lucru analizor biochimie

- în cazul valorilor ce depaşesc limita tehnică a analizorului pentru acest tip de reactiv în ser: 150 g/l, se reia testarea cu proba diluată cu 0,9% NaCl sau apă distilată/deionizată iar la elaborarea rezultatului se va ţine cont de factorul de diluţie;

Valori biologice de referinta

- ser: 6,4 – 8,3 g/dl (64 – 83 g/l)

Semnificatie clinica: Hipoproteinemia poate fi cauzata de pierdere de sange, sindrom nefrotic, arsuri severe, sindromul retentiei de sare si sindromul Kwashiorkor. Hiperproteinemia poate fi observata in cazurile de deshidratare severa sau in mielom multiplu.

- ACIDUL URIC

Principiul reacţiei - Acidul uric prezent in proba formeaza conform reactiilor cuplate descrise mai jos, un complex colorat masurabil la spectofotometru.

Acid uric $+O_2 + 2H_2O \xrightarrow{\text{uricaza}}$ Alantoina $+ CO_2 + H_2O_2$

$2H_2O_2$+4-Aminoantipirina +DCFS $\xrightarrow{\text{peroxidaza}}$ Chinonimina $+ 4H_2O$

Referinte: Metoda colorimetrica cu uricaza/aminophenazona/POD

Standardizare: Metoda standardizata fata Tietz NW. Clinical guide to laboratory tests, 2nd ed. Saunders Co, 1991.

Conditii de lucru:

- lungimea de undă: 505 nm/670 nm
- temperatura: 37^0 C
- volume pipetate automat: reactiv de lucru 300µl, proba 7,5µl, solutie de spalare 1200µl.

Precauţiuni:

- proba = ser, plasmă recoltată pe heparină sau EDTA şi urină colectată pe 24 ore sau eşantion din prima urină de dimineaţă;
- probele de ser/plasmă sunt stabile: 7 zile la 2 - 8^0 C; probele de urină sunt stabile fără refrigerare 4 zile la 20 - 25^0C după adăugare de NaOH până la pH > 8,0 ; probele de urină sunt diluate cu NaCl 0,9%, apă distilată sau apă deionizată în proporţie de 1+10, iar la elaborarea rezultatului se ia în calcul diluţia; eşantioanele de urină care conţin precipitat trebuie centrifugate înainte de a fi analizate;

- nu s-au observat interferenţe semnificative ale probelor icterice (valori până la 2,5 mg/dl ale bilirubinei), lipemice (valori ale concentraţiei trigliceridelor de până la 2000 mg/dl) sau hemolizate (valori ale concentraţiei hemoglobinei de până la 2g/l)

Preparare reactivi, stabilitate reactivi

- standardul (S) si reactivul (A) sunt furnizati este gata de folosire;
- reactivii se depozitează la 2 - 8^0 C si sunt valabili pana la data expirării înscrisă pe flacoane, protejaţi de efectul luminii şi respectându-se normele ce împiedică contaminarea microbiană.

Mod de lucru: conform IL - 01 Instructiuni de lucru analizor biochimie

- în cazul valorilor ce depaşesc limita tehnică a analizorului pentru acest tip de reactiv în ser: 25 mg/dl (11,9 - 1487 µmol/l) sau urină: 0,2 – 275 mg/dl (11,9 – 16362 µmol/l), se reia testarea cu proba diluată cu 0,9% NaCl sau apă distilată/deionizată iar la elaborarea rezultatului se va ţine cont de factorul de diluţie;

Valori biologice de referinta

- Ser:
- Bărbaţi: 3,4 – 7,0 mg/dl (202,3 – 416,5 µmol/l)
- Femei: 2,4 – 5,7 mg/dl (142,8 – 339,2 µmol/l)
- Urină:
- Eşantion din urina de dimineaţă: 37 – 92 mg/dl (2200 – 5475 µmol/l)
- Urina din 24 ore: 200 – 1000 mg/24h (1200 – 5900 µmol/l)

Semnificatie clinica: Determinarea acidului uric este utila in diagnosticarea si tratamentul a numeroase afectiuni renale sau metabolice inclusiv guta, leucemie, psoriasis, inanitie si in cazul pacientilor cu medicatie citotoxica.

e. METODA CALCUL: BILIRUBINA INDIRECTA, LIPIDE, CALCIU IONIC ŞI CLEARANCEUL CREATININEI

- DETERMINAREA BILIRUBINEI INDIRECTE

- ✓ **Formula de calcul**

BILIRUBINA INDIRECTĂ = BILIRUBINA TOTALĂ – BILIRUBINA DIRECTĂ

- ✓ **Valori biologice de referinta**

BILIRUBINA INDIRECTA = 0.1 – 1.00 mg/dl

- DETERMINAREA LIPIDELOR TOTALE

- ✓ **Formula de calcul**

LIPIDE TOTALE = COLESTEROL TOTAL * 2,25 + TRIGLICERIDE + 90

- ✓ **Valori biologice de referinta:**

LIPIDE TOTALE = 500 – 800 mg/dl

- DETERMINAREA CLEARANCE-ULUI CREATININEI

- ✓ **Formula de calcul**

CLEARANCE CREATININĂ = CREATININĂ URINARĂ/CREATININĂ SERICĂ * DEBITUL
DEBITUL = VOLUM URINĂ/120 min

- ✓ **Valori biologice de referinta:**

CLEARANCE CREATININA = 71 – 151 ml/min

- DETERMINAREA CA IONIC

- ✓ **Formula de calcul**

Ca(mg/dl)= (Ca(mg/dl)x 6-p/3)/p+6 p=proteine totale(g/dl)

- ✓ **Valori biologice de referinta:**

CALCIU IONIC = 4,08 – 4,58 mg/dl ; 1,02 – 1,14 mmol/l

- ACIDUL URIC

Principiul reacţiei - Electroforeza proteinelor serice – Separarea electroforetica a fractiunilor proteice din serul sanguin si evaluarea concentratiei componentilor prin metoda migrarii pe gel de agaroza.

Referinte: Metoda de migrare a fractiunilor proteice pe gel de agaroza

Conditii de lucru:

- migrare la 220V in aparatul de electroforeza
- temperatura in uscator: 50^0 C

Precauţiuni:

- proba = ser recoltat pe vacumtainer de biochimie (dop rosu);
- probele de ser sunt stabile: 7 zile la 2 - 8^0 C;

Preparare reactivi, stabilitate reactivi

- preparare solutie tampon in scopul migrarii se face extemporaneu
- preparare reactivi pentru baile de fixare, colorare, decolorare, spalare se face lunar, conform instructiunilor de lucru
- reactivii preparati, precum si cei din trusa se depozitează la temperatura camerei si sunt, protejaţi de efectul luminii şi respectându-se normele ce împiedică contaminarea microbiană.

Mod de lucru:

conform IL – 02, Instructiuni de lucru analizor biochimie

8 RESPONSABILITĂŢI:

8.1 Responsabilul de analiza:

- efectueaza calibrarile şi controalele pe care le interpretează
- efectuează determinările parametrilor solicitaţi pentru fiecare pacient;
- verifică calitatea probelor şi face specificaţii în legătură cu acestea (probe hemolizate, lipemice, icterice sau incorect recoltate);
- determina incertitudinea de masurare
- execută transferul de date din fişierul Export în buletinul de analiză al pacientului cu programul MEDIS şi verifică corectitudinea efectuării acestuia.

- efectuează operaţiunile de întreţinere pentru analizorul A 25 BioSystems. (zilnică, săptămânală, lunară şi anuală).
- Anunţă eventualele defecţiuni ce necesită intervenţia service-ului specializat.

8.2 Sef Laborator:
- Verifică prin sondaj corectitudinea executării analizei, controalelor şi calibrărilor;
- Verifică incertitudinea de măsurare;
- Verifică prin sondaj monitorizarea condiţiilor de lucru;
- Supravegheaza si controleaza intretinerea analizorului si anunta firma de service in caz de nevoie
- Valideaza rezultatele

9 ÎNREGISTRĂRI:

Valorile determinate se înscriu:
- pe suport de hartie, in mapele de lucru zilnice;
- în fişierul Export pe măsura transferului din analizor
- în buletinul de analiză al fiecărui pacient
- rezultatele calibrarilor si controalelor se inscriu automat in memoria aparatului si pe suport de hirtie care este pastrat timp de 1 an.
- curbele de calibrare cu graficele si incertitudinea de masurare
- buletinele de verificare a celulelor si a lampii se pastreaza in dosarul echipamentului
- fisa monitorizare a consumului de apa ;

11. LISTA REACTIVI

Nr. crt.	Reactiv	Depozitare	Preparare reactivi	Stabilitate
1	Calciu	15 - 30˚C	Gata de utilizare	Pana la data marcata pe eticheta
2	Magneziu	2 - 8˚C	Gata de utilizare	Pana la data marcata pe eticheta
3	Fier -ferrozina	2 - 8˚C	4R1 + 1R2	6 luni la 2 - 8˚C
4	Glucoza	2 - 8˚C	Gata de utilizare	Pana la data marcata pe eticheta
5	Colesterol	2 - 8˚C	Gata de utilizare	Pana la data marcata pe eticheta
6	Trigliceride	2 - 8˚C	Gata de utilizare	Pana la data marcata pe eticheta
7	ALT/TGP/GPT IFCC	2 - 8˚C	4R1 + 1R2	2 luni la 2 - 8˚C
8	AST/TGO/GOT IFCC	2 - 8˚C	4R1 + 1R2	2 luni la 2 - 8˚C
9	Bilirubina T + D	2 - 8˚C	4AD/AT + 1R2	20 de zile la 2 - 8˚C

10	Uree/Bun - UV	2 - 8˚C	4R1 + 1R2	2 luni la 2 - 8˚C
11	Creatinina	15 - 30˚C	R1 + R2	2 luni la 2 - 8˚C
12	Acid Uric	2 - 8˚C	Gata de utilizare	Pana la data marcata pe eticheta
13	HDL-colesterol	2 - 8˚C	Gata de utilizare	Pana la data marcata pe eticheta
14	LDL-colesterol	2 - 8˚C	Gata de utilizare	Pana la data marcata pe eticheta
15	G - GT IFCC	2 - 8˚C	4R1 + 1R2	2 luni la 2 - 8˚C
16	ALP - DEA	2 - 8˚C	4R1 + 1R2	2 luni la 2 - 8˚C
17	Alfa amilaza DGC- G3	2 - 8˚C	Gata de utilizare	60 de zile la 2 - 8˚C
18	Alfa amilaza EPS	2 - 8˚C	4R1 + 1R2	20 de zile la 2 - 8˚C
19	Proteine totale	15 - 30˚C	Gata de utilizare	Pana la data marcata pe eticheta
20	Sulfat de sodiu	2 - 8˚C	28.5% in amestec cu apa distilata	7 zile la 2 - 8˚C
21	Solutie tampon	15 - 30˚C	Conform indicatiilor din trusa de reactivi	Preparare extemporanee
22	Solutie de fixare	15 - 30˚C	Conform indicatiilor din trusa de reactivi	7 zile la 15 - 30˚C
23	Solutie de colorare	15 - 30˚C	Conform indicatiilor din trusa de reactivi	7 zile la 15 - 30˚C
24	Solutie de decolorare	15 - 30˚C	Conform indicatiilor din trusa de reactivi	7 zile la 15 - 30˚C
25	Solutie de spalare	15 - 30˚C	Conform indicatiilor din trusa de reactivi	7 zile la 15 - 30˚C

12. ASIGURAREA CALITĂŢII ANALIZEI

- respectarea întocmai a protocolului analizorului / kit;
- verificarea termenelor de utilizare ale fiecărui reactiv;
- controlul intern de calitate;
- participarea la acţiuni de control extern al calităţii.

Spitalul Clinic de Boli Infecţioase"Sf.Parascheva„ Iaşi
Laboratorul de analize medicale
Str.Octav Botez Nr 2

PROCEDURA SPECIFICA

DETERMINARI COAGULARE

Cod PSL – 03

A LABORATORULUI DE ANALIZE MEDICALE

STANDARD DE REFERINTA: SR EN ISO 15189: 2007

EDITIA: 1
REVIZIA: 0
Data: 01.03.2011

DIFUZAT IN REGIM CONTROLAT: EXEMPLAR Nr.

DESTINATAR :…….

APROBAT	VERIFICAT
Manager	Manager Calitate
Prof.Dr. Carmen Dorobăţ	Dr. Diana Matei

Elaborat:

Manager Tehnic	**Sef compartiment Biochimie**
Dr. Rodica Fântânaru	**Chim. prin. Valentina Holban**

Data aprobarii : 01.03.2011
Data aplicarii : 15.03.2011

Avertisment : Documentul de fata este proprietatea **Spitalul Clinic de Boli Infecţioase"Sf.Parascheva„ Iaşi** - Laborator de analize medicale.
Reproducerea si difuzarea documentului sunt in exclusivitate dreptul societatii. Copiile sunt numerotate si controlate.

LISTA DE DIFUZARE / RETRAGERE

Locul difuzării	Primit				Retras			
	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură
R. C	0.	01.03. 2011	Dr. Diana Matei					
Manager General	1.	01.03. 2011	Prof.Dr. Carmen Dorobăţ					
Manager Tehnic		01.03. 2011	Dr. Rodica Fântânaru					
R. C	2.	01.03. 2011	Dr. Diana Matei					
Sef compartiment Biochimie	3.	01.03. 2011	Chim prin. Valentina Holban					
RENAR	4.	01.03.2011	Ing. Cristian Nichita					

INDICATORUL REVIZIILOR

Nr. Crt	Data	Editia/ revizia	Identificari modificare Capitol, subcapitol, pagina modificata, continut modificari	Functia si semnatura		
				Elaborat	Verificat	Aprobat
1	01.03. 2011	Ed. 1/ Rev. 0/	Elaborat PSL -01, in editia 1, revizia 0	Manager Tehnic Dr. Rodica Fântânaru Sef compartiment Biochimie Chim prin. Valentina Holban	Managerul Calitatii Dr. Diana Matei	Manager Prof.Dr. Carmen Dorobăţ

CUPRINS

Capitolul	Denumirea
	Pagina de garda
	Lista de difuzare a procedurilor specifice
	Indicativul aprobarilor si al reviziilor
	Cuprins
1.	Scop
2.	Domeniul de aplicare
3.	Documente de referinta sau conexe
3.1	Documente de referinta
3.2	Documente conexe
4.	Termeni folositi si definirea acetora
4.1	Definitii
4.2	Descrierea principalilor termeni specifici din procedura
4.3	Simboluri si denumiri
5.	Echipamente de incercare si mijloace de masurare
6.	Reguli de procedura pentru determinari hematologice
6.1	Conditii si / sau actiuni prealabie
6.2	Actiuni si / sau masuri preventive
6.3	Reguli de procedura privind modul de lucru
7.	Modul de inregistrare si prezentare a rezultatelor
7.1	Modul de evidenta si prezentare a analizelor
7.2	Inregistrarea si consemnarea rezultatelor
8.	Limite de autoritate si responsabilitati
8.1	Limite de autoritate
8.2	Responsabilitati
9.	Inregistrarile calitatii
9.1	Inregistrarile controlului intern de calitate
9.2	Inregistrarile controlului extern de calitate
10.	Anexe

1. SCOP

Scopul acestei proceduri este de a prezenta modul de organizare si desfasurare a activitatii de incercare, pentru determinarea factorilor coagularii din sistemul extrinsec si intrinsec (timp Quick/activitate protrombina/INR, APTT, timp Howell, timp de sangerare, timp de coagulare), in conformitate cu cerintele impuse de metodele de laborator in vigoare, in vederea demonstrarii competentei laboratorului.

2. DOMENIU DE APLICARE

Aceasta procedura cuprinde metode de analiza pentru cerecetarea elementelor figurate ale sangelui – celulele sau globulele sangelui.
Sangele este un lichid format dintr-o parte lichida numita plasma in care se gasesc suspendate elementele figurate. In cadrul determinarilor hematologice, sunt studiate cele trei feluri de elemente figurate:

- globule rosii numite ertrocite
- globule albe sau leucocite
- trombocite sau plachetele sangelui

3. DOCUMENTE DE REFERINTA

3.1 DOCUMENTE DE REFERINTA

3.1.1 MCL-01
3.1.2 Metode Curente Pentru Analize De Laborator Clinic – 1982
3.1.3 Laboratorul Clinic – Hematologie – 1981, V. KONDI
3.1.4 Hematologie Clinica – 1994 – Delia Mut Popescu

4. TERMENI FOLOSITI SI DEFINIREA ACESTORA

4.1 DEFINITII

4.1.1 TIMP DE COAGULARE – este un test de coagulabilitate globala, in care se foloseste sange capilar
4.1.2 TIMP DE SANGERARE – test care da indicatii asupra hemostazei primare
4.1.3 TIMP QUICK/ACTIVITATE DE PROTROMBINA/INR – metoda de explorare a factorilor coagularii din sistemul extrinsec in prezenta de tromboplastina tisulara in exces
4.1.4 APTT – test de coagulabilitate plasmatica globala intrinseca, care implica in desfasurarea sa aproape toti factorii plasmatici
4.1.5 TIMP HOWELL – este un test de coagulare al plasmei oxalatate sau citatate, dupa recalcifiere

4.2 SIMBOLURI SI DENUMIRI

4.2.1 MCL- 01 – Manualul Calitatii
4.2.2 PGL – Procedura generala
4.2.3 PS – Procedura specifica de analiza
4.2.4 IL – Instructiuni de lucru

5. ECHIPAMENTE DE INCERCARE SI MIJLOACE DE MASURARE

5.1 Baie Termostat BTA07

5.2 Cronometru

6. REGULI DE PROCEDURA PENTRU DETERMINARI HEMATOLOGICE

6.1 CONDITII SI/SAU ACTIUNI PREALABILE

a) Modul de recoltare / prelevare si inregistrare a analizelor este conform PGL-5.4-1.

b) Inscriptionarea si esantionarea probelor de analizat se fac conform PGL - 5.4 – 1.

6.2 ACTIUNI SI / SAU MASURI PREVENTIVE

6.2.1 Protectia Personalului

a) In timpul lucrului este obligatorie purtare echipamentului de protectie

b) Personalul manevreaza cu atentie probele de analizat pentru a evita contactul direct cu acestea

c) Aparatul trebuie manevrat cu atentie de catre personal.

6.3 REGULI DE PROCEDURA PRIVIND MODUL DE LUCRU

6.3.1 Mijloace de Masurare

a) Cronometru nr. inv. 5/2009.

6.3.2MATERIALE

a) Vacumtainere ce contin proba de analizat cu ID-ul pacientului

b) Tromboplastina

6.3.3 MODUL DE LUCRU PENTRU DETERMINAREA TIMP QUICK/ACTIVITATE DE PROTROMBINA/INR, APTT, TIMP HOWELL, TIMP DE SANGERARE, TIMP DE COAGULARE

6.3.3.1 Modul de Lucru pentru TIMP DE SANGERARE

Se masoara durata unei sangerari provocate prin incizia orizontala a unei zone mediane a lobului urechii. Din 30 in 30 de secunde se culeg picaturile de sange pe o bucata de hartie de filtru prin absorbtie. Sfarsitul sangerarii este marcat de momentul in care plaga nu mai coloreaza hartia de filtru. In acest moment se opreste cronometrul, notandu-se timpul scurs.

6.3.3.2 Modul de Lucru pentru TIMP DE COAGULARE

Pe o lama de sticla se pune o mica picatura de ser fiziologic. Se inteapa pulpa degetului, se indeparteaza prima picatura de sange. Picatura a doua se lasa sa cada liber pesta picatura de ser fiziologic. Se declanseaza cronometrul si se pune lama intr-o cutie Petri prevazuta cu hartie de filtru umezit. Se lasa la temperatura camerei. Se urmareste coagularea prin inclinarea usoara a lamei din minut in minut.

6.3.3.3 Modul de Lucru pentru TIMP QUICK/ACTIVITATE PROTROMBINA/INR

Se lucreaza in eprubete de hemoliza, la baie la 37 grade celsius. Se folosesc 0.2 ml plasma oxalatata, bogata in trombocite (obtinuta prin centrifugarea probei de sange) peste care se

adauga tromboplastina calcica, declasandu-se simultan cronometrul. Se urmareste coagularea prin inclinarea regulata si lenta. Se inregistreaza timpul in formularul corespunzator.

6.3.3.4 Modul de Lucru pentru APTT

Se lucreaza in eprubete de hemoliza in care se adauga plasma de investigat, cefalina si clorura de calciu. Se declanseaza cronometrul, se amesteca usor si se urmareste formarea cheagului notandu-se timpul realizat.

6.3.3.5 Modul de Lucru pentru TIMP HOWELL

Se lucreaza in eprubete de hemoliza in care se adauga plasma de investigat, clorura de calciu. Se declanseaza cronometrul si se noteaza timpul de coagulare.

6.4 Modul de Exprimare a Rezultatelor

Dupa determinarea timp de sangerare, timp de coagulare, timp Quick/activitate de protrombina/INR, APTT, timp Howell se trec rezultatele in condica zilnica CL-01-01.

7 MODUL DE INREGISTRARE SI PREZENTARE A REZULTATELOR

7.1 Modul de Evidenta si Prezentare a Analizelor

- **Softul Medis si Registrul de comenzi RGL-5.4-01, cuprind urmatoarele :**
  - numar ID
  - data prezentarii pacientului la laborator
  - nume / prenume pacient
  - varsta
  - Cod numeric personal (CNP)
  - diagnostic
  - analize solicitate
  - persoana care a recoltat
  - locul recoltarii – intern, extern
  - semnatura pacientului

- **Buletinul de analiza, cod FGL-5.8-01 cuprinde :**
  - date identificare laborator (denumire, adresa, telefon, fax, email)
  - numarul de ordine - ID din Registrul unic de comenzi, cod: R-02-01, acelasi din softul Medis
  - numele si prenumele pacientului
  - CNP / varsta pacient
  - data recoltarii probelor
  - persoana recoltare
  - data eliberarii rezultatului
  - tipul analizei
  - rezultatul analizei
  - observatii
  - valori de referinta (min-max)

- validat de ..

7.2 Inregistrarea si Consemnarea Rezultatelor

Rezultatele care sunt inregistrate in CL-01-01, sunt transferate in softul Medis.
Buletinul de analize este rezultatul printarii ca atare din softul Medis.
Validarea buletinelor de analize se face prin parafare de catre seful de laborator.

8 RESPONSABILITATI SI LIMITE DE AUTORITATE

8.1 Limite de Autoritate

Pentru executarea in bune conditii a prezentei proceduri, sunt date in schema de mai jos limitele de autoritate:

- sef laborator
- responsabil de analiza

8.2 RESPONSABILITATI

8.2.1 Seful de Laborator

- valideaza rezultatele din buletinele de analize prin parafare si semnatura.

8.2.2 Responsabilul De Analiza

- executa probele de coagulare la baia termostat BTA07
- comunica sefului de laborator orice problema aparuta in timpul prelucrarii probelor.

9 INREGISTRARI

Corectitudinea rezultatelor analizelor hematologice este sustinuta de controlul intern si extern de calitate.

9.1 Inregistrarile Controlului Intern de Calitate

Se compara valoarea masurata din cadrul testelor de coagulare cu valoarea sa adevarata (valoarea tinta), cu ajutorul plasmei de control pentru incadrarea in intervalele acceptate.

9.2 Inregistrarile Controlului Extern de Calitate

Controlul extern de calitate se efectueaza de 4 ori pe an.

9.3 CONDICA ZILNICA – CL-01-01.

10 ANEXE Nu sunt.

Spitalul Clinic de Boli Infecţioase"Sf.Parascheva„ Iaşi
Laboratorul de analize medicale
Str.Octav Botez Nr 2

PROCEDURA SPECIFICA

DETERMINAREA BIOCHIMICA A ELECTROFOREZEI PROTEINELOR SERICE

Cod: PSL - 04

LABORATORUL DE ANALIZE MEDICALE

STANDARD DE REFERINTA: SR EN ISO15189: 2007

EDITIA: 1
REVIZIA: 0
Data: 01.03.2011

DIFUZAT IN REGIM CONTROLAT: EXEMPLAR Nr.

DESTINATAR :……

APROBAT	**VERIFICAT**
Manager	**Manager Calitate**
Prof.Dr. Carmen Dorobăţ	**Dr. Diana Matei**

Elaborat:

Manager Tehnic	**Sef compartiment Biochimie**
Dr. Rodica Fântânaru	**Chim. prin. Valentina Holban**

Data aprobarii : 01.03.2011
Data aplicarii : 15.03.2011

Avertisment : Documentul de fata este proprietatea **Spitalul Clinic de Boli Infecţioase"Sf.Parascheva„ Iaşi** - Laborator de analize medicale.
Reproducerea si difuzarea documentului sunt in exclusivitate dreptul societatii. Copiile sunt numerotate si controlate.

LISTA DE DIFUZARE / RETRAGERE

Locul difuzării	Primit				Retras			
	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură
R. C	0.	01.03. 2011	Dr. Diana Matei					
Manager General	1.	01.03. 2011	Prof.Dr. Carmen Dorobăţ					
Manager Tehnic		01.03. 2011	Dr. Rodica Fântânaru					
R. C	2.	01.03. 2011	Dr. Diana Matei					
Sef compartiment Biochimie	3.	01.03. 2011	Chim prin. Valentina Holban					
RENAR	4.	01.03.2011	Ing. Cristian Nichita					

INDICATORUL REVIZIILOR

Nr. Crt	Data	Editia/ revizia	Identificari modificare Capitol, subcapitol, pagina modificata, continut modificari	Functia si semnatura		
				Elaborat	Verificat	Aprobat
1	01.03. 2011	Ed. 1/ Rev. 0/	Elaborat PSL -01, in editia 1, revizia 0	Manager Tehnic Dr. Rodica Fântânaru Sef compartiment Biochimie Chim prin. Valentina Holban	Managerul Calitatii Dr. Diana Matei	Manager Prof.Dr. Carmen Dorobăţ

CUPRINS

Capitolul **Denumirea**

Pagina de garda

Lista de difuzare a procedurilor specifice

Indicativul aprobarilor si al reviziilor

Cuprins

1. Scop
2. Domeniul de aplicare
3. Documente de referinta sau conexe
3.1 Documente de referinta
3.2 Documente conexe
4. Termeni folositi si definirea acetora
4.1 Definitii
4.2 Descrierea principalilor termeni specifici din procedura
4.3 Simboluri si denumiri
5. Echipamente de incercare si mijloace de masurare
6. Reguli de procedura pentru determinari hematologice
6.1 Conditii si / sau actiuni prealabie
6.2 Actiuni si / sau masuri preventive
6.3 Reguli de procedura privind modul de lucru
7. Modul de inregistrare si prezentare a rezultatelor
7.1 Modul de evidenta si prezentare a analizelor
7.2 Inregistrarea si consemnarea rezultatelor
8. Limite de autoritate si responsabilitati
8.1 Limite de autoritate
8.2 Responsabilitati
9. Inregistrarile calitatii
9.1 Inregistrarile controlului intern de calitate
9.2 Inregistrarile controlului extern de calitate
10. Anexe

1. Scop

Procedura are ca scop documentarea activităţii de determinarea de proteine serice si anume: Albumina, Alfa 1, Alfa 2, Beta si Gama.

2. Documente de referinţă şi conexe

2.1. Documente de referinţă

SR EN ISO 15189:2007 – Laboratoare medicale. Cerinţe particulare pentru calitate şi competenţă;

2.2. Documente conexe

- Metode de laborator M.S. vol.I Ed. Medicala Bucureşti 1977
- Metode de laborator M.S.- Ed. Academiei de Ştiinţe Medicale vol.2

3. Reguli de procedură şi măsuri de siguranţă

3.1.Condiţii si/sau acţiuni prealabile.

a).Modul de analiză, acceptare şi înregistrare a comenzi se face conform PGL -4.4
b).Modul de păstrare şi protejare a produselor ce urmeaza a fi analizate, se face conform PGL -4.4
c).Inscripţionarea şi eşantionarea probelor de analizat se face conform PGL -4.4
d).Pregătirea probei.
Probele supuse determinărilor colorimetrice sunt întotdeauna recent recoltate şi centrifugate 5 minute la cca 5000 rot/min. pentru a separa foarte bine serul de elementele sangvine. Dacă, din motive întemeiate determinarea este amânată serul este decantat în eprubete curate, numerotate conform registrului de pacienţi sunt păstrate la 2-8^0 C.

3.2.Acţiuni şi/sau măsuri preventive.

6.2.1 Protecţia personalului.
În timpul efectuării analizei, executanţii trebuie să poarte halate curate şi mănuşi de protecţie.

6.2.2. Protecţia mijloacelor de măsurare şi/sau analiză.
Echipamente de măsurare şi/sau analiză sunt depozitate în locuri fixe, uşor accesibile în timpul efectuării analizelor.
Se vor proteja aparatele cu folia de plastic.

6.2.3. Verificarea stării de funcţionare şi confirmare metrologică.
Verificarea stării de funcţionare:
-se verifică funcţionarea analizorului pentru biochimie DVSE SEBIA seria ?????, (integritatea şi aspectul exterior al aparatului , integritatea şi starea cablurilor de alimentare şi de legătură) şi a pipetelor automate. Dacă se constată deteriorări sau aspecte neconforme cu cerinţele de protecţia muncii se opreşte lucrul şi se anunţă Directorul General în vederea înlăturării sau remedierii.
- se verifică probele care trebuie să fie numerotate şi înregistrate în registru de evidenţă a pacienţilor.

4. Procedura de lucru :

Echipament : - DVSE SEBIA seria ?????
- Centrifuga PLC-05, seria ??????
- reactivi trusa
- conuri
- seruri de control.

4.1. Mod de lucru - DVSE :

4.1.1.Prepararea solutiilor de lucru :
a.Solutie Tampon-se dizolva continutul unui flacon de tampon barbital in 1500ml apa deionozata(distilata)
b.Solutie acid-alcool –la 1000 ml apa deionizata se adauga 600 ml metanol si 400 ml acid acetic glacial .Se amesteca bine.
c.Solutie acid acetic 5%-la 2850 ml apa deionozata se adauga 150 ml acid acetic glacial.Se amesteca bine.
d.Solutie de colorare-se dizolva continutul flaconului de colorat in 1000 ml solutie acid acetic 5%

4.2.Prepararea probelor :
Ser :este preferat serul proaspat , dar se poate folosi , deasemenea si ser tinut la 2-8 ^{o} C pana la 72 de ore.
Diluati toate probele si controalele prin amestecarea unei parti de ser cu patru parti de solutie tampon
Serurile hemolizate sau lipemice nu se recomanda pentru analiza.

4.3. Mod de lucru :
a.Se prepara toate probele dupa cum este scris in ‘‘prepararea probelor’’
b.Se umplu camerele de procesare cu cate 300 ml din urmatoarele solutii :solutie acid-alcool I-300ml ; solutie de colorare-300ml ; solutie acid acetic 5% I-300 ml ; solutie acid-alcool II-300 ml ; solutie acid acetic 5% II –300ml
c.Se scoate gelul de agaroza din pachet.Se absoarbe excesul de gel de pe folie cu servetelul din hartie de filtru.
d.Se ataseaza pe folie bandaleta pentru gel in pozitia corespunzatoare.
e.Se pipeteaza pe centrul fantei 3-5 μL ser diluat.Se asteapta 5 minute pentru absortia completa, de la ultima proba pipetata
f.Se pune folia de gel in camera de migrare cu polul +, la + si cu polul – la -Migrarea se face timp de 20 min. la 100 V.
g.Dupa terminarea migrarii se scoate gelul din camera de migrare si se introduce pentru 3 minute in solutie acid-alcool
h.Se pune gelul la uscat
i.Se introduce gelul uscat, succesiv in urmatoarele solutii : solutie colorare-3 min ; solutie acid acetic 5%-2 min ; solutie acid-alcool-2 min ; solutie acid acetic 5%- 2 min
j.Se scoate gelul din ultima solutie si se pune la uscat, pana la uscare completa
m.Se face citirea fractiunilor la 600 nm.

1. Se prepara solutiile conform prospectului ;
2. Se fac dilutiile de ser in proportie de 1 :4(20 μl ser + 80μl Tampon)
3. In cuva de migrare se pun 300 ml TAMPON TRIS-BARBITAL ;tamponul se schimba la 2 geluri migrate ;
4. Se scote gelul din placuta protectoare, cu multa atentie ;
5. Se absoarbe excesul de lichid de pe gel cu ajutorul unei benzi de hartie de filtru, prin aplicarea acesteia pe suprafata gelului, astfel incat cele 2 puncte de reper de pe suprafata gelului sa fie dispuse la jumatatea benzii de hartie de filtru.Se indeparteaza cat mai RAMD banda de hartie ;
6. Se pune aplicatorul pe gel si se apasa usor cu degetul, asfel incat sa nu se formeze bule de aer sub aplicator ;
7. Se depun 5 μl de ser diluat pe fiecare fanta cat mai repede (1-2 minute) si se asteapta 5 min. de la ultima aplicare de proba ;
8. Se indeparteaza excesul de ser cu ajutorul unei benzi de hartie de filtru ;
9. Se aruca aplicatorul ;
10. Se fixeaza gelul in suport cu fata in jos, astfel incat sa fie capatul pozitiv al gelului la polul pozitiv al cuvei ;
11. Se porneste migrarea = durata 20 de minute la 100 V ;
12. Dupa migrare se pune gelul in suport si se introduce in baia de fixare 15 minute, in pozitie verticala ;
13. Se usuca gelul la temperatura de pana la 80 ^{o} C ;
14 Se pune gelul in baia de colorare timp de 10 minute ;
15. Apoi gelul este trecut prin baile de decolorare, de 2-3 ori succesiv ;
16. Se usuca gelul la temperatura de pana la 80 ^{o} C ;
17. Se pune gelul in densiometru ;
18. Se introduce data :zi se da comanda ENTER,luna se da comanda ENTER, an se da comanda ENTER.
19. Apare meniul principal :F1-lista de lucru
F8-se sterge lista veche
F4-selectere se da comanda ENTER , se introduce ID-ul pacientilor (nr. de identificare) se da din nou comanda ENTER, se introduce varsta-ENTER, sex-ENTER, nume, prenume-ENTER.

20. Dupa ce s-au introdus pacientii se fixeaza gelul pe GEL CARRIER si se introduce in aparat
21. Se apasa tasta F1 si se da comanda ENTER :
-In functie de simbol avem :
-proba complet identificata
-proba identificata partial (2,3 fractiuni)
-proba neidentificata
Se selecteaza pacientul dorit cu ajutorul sagetilor si apoi se da comanda ENTER

22. Modificare minima :

F1 minim

Se da comanda Tab,Delete, F10, se apasa sagetile, Insert, F10, Print
23. Trecerea de la un pacient la altul se face cu tasta ‘’Pg. DOWN’’

5.Înregistrarea rezultatelor.

Rezultatele sunt înregistrate şi prezentate în registrul de biochimie şi în registrul pacienti /intrari probe, unde executantul înregistrează:

-data primirii probei;
-toate încercarile;
-rezultatele finale indicate de aparate sau calculate de executant.

6.Responsabilităţi

6.1. Responsabilul de analiză răspunde de executarea corectă ,conform prezentei proceduri, a operaţiei de determinare a concentraţiei serice a glucozei, colesterolului, trigliceridelor, a acidului uric,calciului, magneziului, sideremiei, a bilirubinei totale /directe,a ureei si a creatininei. Răspunde de executarea corectă ,conform prezentei proceduri, a operaţiei de determinare a a activităţii enzimatice a transaminazelor serice: TGP şi TGO, a fosfatazei alkaline serice, a α-amylazei serice si a γ-glutamil transferazei serice (GGT)

6.2. Responsabilul de analiză /proces trebuie sa verifice rezultatul analizelor si sa autorizeze eliberarea acestora (prin semnatura in Registrul pacienti /intrari probe)

7.Înregistrări

- registrul pacienti/intrari probe
- registrul de biochimie
- buletin de analiza

Spitalul Clinic de Boli Infecţioase"Sf.Parascheva„ Iaşi
Laboratorul de analize medicale
Str.Octav Botez Nr 2

PROCEDURA SPECIFICĂ

EXAMENUL BIOCHIMIC AL URINII, EXAMENUL MICROSCOPIC AL SEDIMENTULUI si NUMARATOAREA ELEMENTELOR URINARE

Cod PSL – 05

A LABORATORULUI DE ANALIZE MEDICALE

STANDARD DE REFERINTA: SR EN ISO 15189: 2007

EDITIA: 1
REVIZIA: 0
Data: 01.03.2011

DIFUZAT IN REGIM CONTROLAT: EXEMPLAR Nr.

DESTINATAR :…….

APROBAT	VERIFICAT
Manager	Manager Calitate
Prof.Dr. Carmen Dorobăţ	Dr. Diana Matei

Elaborat:

Manager Tehnic	Şef Compartiment Laborator Hematologie/ Imunhematologie
Dr. Rodica Fântânaru	Dr. Denisa COVACIUC

Data aprobarii : 01.03.2011
Data aplicarii : 15.03.2011

Avertisment : Documentul de fata este proprietatea **Spitalul Clinic de Boli Infecţioase"Sf.Parascheva„ Iaşi** - Laborator de analize medicale.
Reproducerea si difuzarea documentului sunt in exclusivitate dreptul societatii. Copiile sunt numerotate si controlate.

LISTA DE DIFUZARE / RETRAGERE

Locul difuzării	Primit				Retras			
	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură
R. C	0.	01.03. 2011	Dr. Diana Matei					
Manager General	1.	01.03. 2011	Prof.Dr. Carmen Dorobăţ					
Manager Tehnic		01.03. 2011	Dr. Rodica Fântânaru					
R. C	2.	01.03. 2011	Dr. Diana Matei					
Şef Compartiment Laborator Hematologie/ Imunhematologie	3.	01.03. 2011	Dr. Denisa Covaciuc					
RENAR	4.	01.03.2011	Ing. Cristian Nichita					

INDICATORUL REVIZIILOR

Nr. Crt	Data	Editia/ revizia	Identificari modificare Capitol, subcapitol, pagina modificata, continut modificari	Functia si semnatura		
				Elaborat	Verificat	Aprobat
1	01.03. 2011	Ed. 1/ Rev. 0/	Elaborat PSL -06, in editia 1, revizia 0	Manager Tehnic Dr. Rodica Fântânaru Şef Compartiment Laborator Hematologie/ Imunhematologie Dr. Denisa Covaciuc	Managerul Calitatii Dr. Diana Matei	Manager Prof.Dr. Carmen Dorobăţ

CUPRINS

1. **SCOP**
2. **DOMENIU DE APLICARE**
3. **DOCUMENTE DE REFERINTA**
4. **DEFINITII SI ABREVIERI**
5. **DESCRIERE PROCEDURA**
6. **RESPONSABILITATI**
7. **INREGISTRARI SI ANEXE**

1. SCOP

Prezenta procedura descrie analiza urinei.

2. DOMENIU DE APLICARE

Analiza urinei este un examen esential pentru persoanele care necesita un consult medical, este un indicator obisnuit al starii de sanatate sau boala a oamenilor si a ramas o parte integranta astarii de sanatate a pacientului

Doua caracteristici sunt importante :
a) urina se recolteaza usor
b) urina ne da informatii asupra multor functii metabolice ale organismului si aceste informatii pot fi obtinute prin teste de laborator foarte simple, cu costuri mici si pentru un numar mare de pacienti. Este folosita atat pentru investigarea unor boli renale cat si pentru alte afectiuni asimptomatice ; ea poate fi si o metoda de screening.

3. DOCUMENTE DE REFERINTA

- Metode curente pentru analize de laborator clinic, Editura Medicala, 1982
- Laboratorul clinic – Biochimie, Editura Medicala, 1981 – Natalia Mitrica-Kondi

4. DEFINITII SI ABREVIERI

Prezenta procedura foloseste termenii definiti de “SR EN ISO 9000:2006 – Sisteme de management al calitatii. Principii fundamentale si vocabular.”

5. DESCRIERE PROCEDURA

5.1 Echipamente de incercare si masurare

- cititor semiautomat stripuri urini URISYS seria UX 09604673
- microscop, serie ?????
- centrifuga electrica seria ????????
- stripuri
- eprubete, lame, lamele, stative

5.2 Masuri de protectie a personalului

- purtarea echipamentului de protectie

- respectarea normelor privind securitatea muncii

5.3 Mod de lucru

Prelevarea probei de urina se poate face la nivelul unei unitati sanitare sau la domiciliul pacientului. Se preleva prima urina de dimineata, fiind mai concentrata. Transportul trebuie asigurat in cel mult o ora de la recoltare, iar daca nu este posibil, urina se pastreaza la frigider. Recoltarea se face in eprubete de plastic de unica folosinta sau sticla 10-15 ml.
Analiza urinei consta in: **examenul chimic si examenul microscopic.**

Examenul chimic al urinei se realizeaza prin:

a) Cu ajutorul stripurilor se determina prezenta hematiilor, leucocitelor, urbilinogenului, bilirubinei, proteinelor, nitritilor, corpilor cetonici, glucozei, ph-ului si densitatea urinara. Acestea reprezinta un test de screening pentru decelarea diabetului, a obstructiilor biliare, ale unor afectiuni renale si ale tractului urinar.
Stripul se introduce in urina proaspata pentru 30 sec. si apoi se efectuezaza citirea.

In cazul rezultatelor negative benzile stripului raman nemodificate, Iar in cazul rezultatelor pozitive se modifica dupa cum urmeaza:
- hematiile prezente dau culoare verde
- leucocitele, de la galben pal cand sunt absente, la violet cand sunt cca 500 leucocite/ µl
- urobilinogenul prezent da culoarea rosie
- proteinele modifica culoarea de la galben la verde
- nitritii dau culoare roz
- corpii cetonici dau culoarea violet din ce in ce mai intens in functie de concentratie
- glucoza este evidentiata semicantitativ de la blue, cand este absenta, la maro inchis cand ajunge la peste 1000 miligrame la decilitru.
- ph-ul este masurat pe o scala de la 5 la 9 (de la portocaliu la verde)
- densitatea normala este 1015 (verde kaki) si creste pe o scala pana la 1030 (galben portocaliu)

Rezultatele obtinute cu ajutorul stripului trebuie comparate cu cele ale sedimentului urinar si cu alte examene biochimice ale sangelui
Se evita expunerea stripului la lumina soarelui, se pastreaza la loc uscat pana la max. 30 °C si se lucreaza pana la data expirarii inscrisa pe tub.

Factori de interferenta: daca stripul este tinut in urina prea mult timp, poate da rezultate false, pentru ca substantele cu care este impregnate se dizolva; de asemenea, daca este tinut prea putin timp rezultatele nu sunt reale
Controlul calitatii trebuie sa urmareasca urmatoarele :

- data expirarii
- atunci cand exista o mica suspiciune de deteriorare a stripurilor, este interzisa folosirea lor

Examenul microscopic al urinei:

Se face pe sedimentul urinei proaspete , la cel mult 6 ore de la emisie. Urina se centrifugheaza 5 minute la 1500 rot./min. Se elimina supernatantul si se lucreaza pe sedimentul ramas. Sedimentul se picura pe lama de sticla curata si se examineaza la microscop cu obiectivul de 10, analizandu-se cel putin 10 campuri microscopice.
Sedimentele care se intalnesc in urina se impart in doua grupe mari: sedimentul neorganizat si sedimentul organizat.

In cadrul **sedimentului neorganizat** intalnim uratii, carbonatii de calciu si magneziu, acid uric, oxalatul de calciu etc. Analiza microscopica a cristaluriei este utila in litiazele renourinare, dar si in urmarirea evolutiei unor afectiuni, cand datorita distructiei celulare masive, se formeaza cristale de acid uric si urati amorfi. In cazuri mai rare, intalnite exclusiv in stari patologice apar cristale de cisteina, tirozina, de acizi grasi, colesterol, bilirubina, melanina.

Principalele proprietati chimice ale sedimentelor neorganizate sunt :
- usor solubil la incalzire – uratii
- greu solubil sau insolubil la incalzire : fosfatii, carbonatul de calciu, uratul de amoniu, oxalatul de calciu, acidul uric (care se dizolva in acidul acetic si clorhidric).

Sedimentul organizat se deosebeste de cel neorganizat prin insolubilitatea la cald, in acidul acetic si clorhidric. In cadrul lui intalnim: elemente celulare (celule epiteliale, bazinetale, uretale, renale, leucocite, hematii), cilindri, pseudocilindri, alte elemente.
- celulele epiteliale patrund in urina in timpul trecerii ei prin caile urinare. In urina normala se intalnesc celule epiteliale plate cu aspect poliedric. In anumite stari patologice apar epitelii care provin din caile superioare, basinet sau tubul urinifer. Celulele din basinet si tubul renal sunt mai mici, au forma ovala sau rotunda, iar nucleul raportat la dimensiunea celulei este mai mare.
- leucocitele se gasesc izolate, in numar mai mic in urina normala (1-5 pe camp). Atunci cand sunt foarte numeroase, arata o stare patologica a cailor urinare si a rinichilor. Leucocitele pot fi dispuse izolat, grupate, in depozit, sau sub forma de cilindri. Se observa in special prezenta neutrofilelor, mai rar a eozinofilelor (nefrita interstitiala alergica)
- ertrocitele au dimensiuni mai mici decat leucocitele si au fie aspectul tipic (discuri slab colorate in galben, anucleate), fie se prezinta sub forma unor inele palide care constituie un semn al originii renale al sangelui. Ele se gasesc in urina normala in numar de 1-5 pe campul microscopic. Atunci cand numarul lor este foarte mare apare hematuria microscopica sau macroscopica. Uneori hematiile se organizeaza sub forma unor cilindri care asociati cu proteinuria marcata, certifica originea renala a hematiilor. Hematuria nu implica intotdeauna un

proces inflamator, ci ea poate apare si dupa efort fizic sau la batrani, datorita modificarilor sclerotice ale vaselor sanguine

- cilindrii urinari sunt formatiuni alungite – « mulaje » ale lumenului tubular distal. Formarea cilindrilor este favorizata de starile de deshidratare, cresterea concentratiei urinei la nivelul tubilor si de aciditatea urinei. Ei sunt asociati in general cu prezenta albuminei in urina. In urina alcalina cilindrii apar foarte rar. Prezenta cilindrilor fara albuminurie se poate observa dupa un efort fizic.

Cilindrii urinari se impart in :

- cilindrii hialini – formatiuni palide, transparente, se formeaza in rinichi dar nu indica intotdeauna un proces patologic renal si pot apare si in albuminuriile febrile, de staza, post efort sportiv
- cilindrii granulosi au aceleasi dimensiuni ca cilindrii hialini, dar au pe suprafata lor granulatii de diverse marimi ce reprezinta detritusuri celulare. Acesti cilindri apar numai cand sunt leziuni renale si nu insotesc asa-zisele « albuminurii fiziologcie »

Atunci cand suprafata cilindrului se acopera cu leucocite, se formeaza cilindri leucocitari. Cilindrii hematici sunt constituiti fie numai din eritrocite sau acestea s-au lipit de suprafata cilindrilor hialini si granulosi. De o importanta mare in procesele renale grave, este prezenta cilindrilor cirosi ce au dimensiuni mai mari, prezentand si incizuri laterale. Uneori cilindri sunt acoperiti de urati si apar la sfarsitul unui proces inflamator renal

- pseudocilindrii au o asemanare superficiala cu cilindrii adevarati si au capetele rotunjite. Ei nu au nici o legatura cu leziunile renale
- alte elemente ale sedimentului pot fi intalnite mai rar : celule neoplazice (tumori renale, vezicale, prostatice), diverse cristale medicamentoase, spermatozoizi si uneori chiar paraziti (trichomonas)

6. RESPONSABILITATI

6.1 Seful de laborator:

- emite buletinul de analiza
- valideaza prin parafare buletinul de analiza cod: FGL-5.8-1

6.2 Responsabilul de analiza:

- pregateste probele pentru examenul chimic si microscopic,
- citeste probele,
- inregistreaza rezultatele in condica zilnica CL-02-01

7 INREGISTRARI SI ANEXE

7.1 Softul Medis si Registrul de comenzi - RGL- 5.4 - 01, cuprind urmatoarele :

- numar ID
- data prezentarii pacientului la laborator

- nume / prenume pacient
- varsta
- Cod numeric personal (CNP)
- diagnostic
- analize solicitate
- persoana care a recoltat
- locul recoltarii – intern, extern
- semnatura pacientului

7.2 Buletinul de analiza, cod: PGL - 5.8 - 01 cuprinde :

- date identificare laborator (denumire, adresa, telefon, fax, email)
- numarul de ordine - ID din Registrul unic de comenzi, cod: **RGL - 5.4- 01**, acelasi din softul Medis
- numele si prenumele pacientului
- CNP / varsta pacient
- data recoltarii probelor
- persoana recoltare
- data eliberarii rezultatului
- tipul analizei
- rezultatul analizei
- observatii
- valori de referinta (min-max)
- validat de ..

Spitalul Clinic de Boli Infecţioase"Sf.Parascheva„ Iaşi
Laboratorul de analize medicale
Str.Octav Botez Nr 2

PROCEDURA SPECIFICĂ

DETERMINARI IMUNOLOGICE

Cod PSL – 06

A LABORATORULUI DE ANALIZE MEDICALE

STANDARD DE REFERINTA: SR EN ISO 15189: 2007

EDITIA: 1
REVIZIA: 0
Data: 01.03.2011

DIFUZAT IN REGIM CONTROLAT: EXEMPLAR Nr.

DESTINATAR :…….

APROBAT	VERIFICAT
Manager	Manager Calitate
Prof.Dr. Carmen Dorobăţ	Dr. Diana Matei

Elaborat:

Manager Tehnic	Şef Compartiment Laborator Hematologie/ Imunhematologie
Dr. Rodica Fântânaru	Dr. Denisa COVACIUC

Data aprobarii : 01.03.2011
Data aplicarii : 15.03.2011

Avertisment : Documentul de fata este proprietatea **Spitalul Clinic de Boli Infecţioase"Sf.Parascheva„ Iaşi** - Laborator de analize medicale.
Reproducerea si difuzarea documentului sunt in exclusivitate dreptul societatii. Copiile sunt numerotate si controlate.

LISTA DE DIFUZARE / RETRAGERE

Locul difuzării	Primit				Retras			
	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură
R. C	0.	01.03. 2011	Dr. Diana Matei					
Manager General	1.	01.03. 2011	Prof.Dr. Carmen Dorobăţ					
Manager Tehnic		01.03. 2011	Dr. Rodica Fântânaru					
R. C	2.	01.03. 2011	Dr. Diana Matei					
Şef Compartiment Laborator Hematologie/ Imunhematologie	3.	01.03. 2011	Dr. Denisa Covaciuc					
RENAR	4.	01.03.2011	Ing. Cristian Nichita					

INDICATORUL REVIZIILOR

Nr. Crt	Data	Editia/ revizia	Identificari modificare Capitol, subcapitol, pagina modificata, continut modificari	Functia si semnatura		
				Elaborat	Verificat	Aprobat
1	01.03. 2011	Ed. 1/ Rev. 0/	Elaborat PSL -06, in editia 1, revizia 0	Manager Tehnic Dr. Rodica Fântânaru Şef Compartiment Laborator Hematologie/ Imunhematologie Dr. Denisa Covaciuc	Managerul Calitatii Dr. Diana Matei	Manager Prof.Dr. Carmen Dorobăţ

CUPRINS

Capitolul **Denumirea**

Pagina de garda

Lista de difuzare a procedurilor specifice

Indicativul aprobarilor si al reviziilor

Cuprins

1. Scop
2. Domeniul de aplicare
3. Documente de referinta si conexe
4. Termeni folositi si definirea acetora
5. Echipamente de incercare si mijloace de masurare
6. Reguli de procedura pentru determinari imunologice

6.1 Conditii si / sau actiuni prealabile

6.2 Actiuni si / sau masuri preventive

6.3 Reguli de procedura privind modul de lucru

6.3.1 Mijloace de masurare

6.3.2 Materiale

6.3.3 Mod de lucru pentru determinarea: H. Pylori, AgHBs, HCV, PSA, HIV, HBs, Hbe, HBc, Chalmydia, LH, FSH, ASLO, CRP, FR, VDRL, TPHA

7. Modul de inregistrare si prezentarea rezultatelor

7.1 Modul de evidenta a analizelor

7.2 Inregistrarea si consemnarea rezultatelor

8. Responsabilitati si limite de autoritate

8.1 Limite de autoritate

8.2 Responsabilitati

9. Inregistrarile calitatii

1. SCOP

Scopul acestei proceduri este de a prezenta modul de organizare si desfasurare a activitatii de incercare, pentru determinarea cantitativa in vitro de:
- H. Pylori, AgHBs, HCV, PSA, HIV, HBs, Hbe, HBc, Chalmydia, LH, FSH, ASLO, CRP, FR, VDRL, TPHA, in conformitate cu cerintele impuse de metodele de laborator in vigoare.

2. DOMENIU DE APLICARE

Aceasta procedura cuprinde metode de analiza pentru determinarea in vitro a H. Pylori, AgHBs, HCV, PSA, HIV, HBs, Hbe, HBc, Chalmydia, LH, FSH, ASLO, CRP, FR, VDRL, TPHA.

3. DOCUMENTE DE REFERINTA SAU CONEXE

3.1 DOCUMENTE DE REFERINTA

3.1.1 MCL01
3.1.2 Metode de laborator –Editura medicala 1977

3.2 DOCUMENTE CONEXE
3.2.1 IL- 03
3.2.2 Prospectele aferente fiecarui kit de reactivi

4. TERMENI FOLOSITI SI DEFINIREA ACESTORA

4.1 DEFINITII

4.1.1 H. PYLORI – bacterie ce se gaseste pe mucoasa stomacului
4.1.2 AgHBs – virus hepatic de tip B
4.1.3 HCV – virus hepatic de tip C
4.1.4 PSA – antigen specific de prostata
4.1.5 HIV – virusul imunodeficientei umane
4.1.6 Anticorpi anti HBs – anticorpi ce apar in hepatita de tip B
4.1.7 Anticorpi anti HBe – anticorpi ce apar in hepatita de tip B
4.1.8 Anticorpi anti HBc – anticorpi ce apar in hepatita de tip B
4.1.9 Antigen Hbe – apare in hepatita de tip B
4.1.10 Chlamydia – bacterie ce poate fi prezenta in probele cervicale, uretrale si probe de urina la barbati
4.1.11 LH – glicoproteina cu rol in reglarea ovulatiei si altor functii ovariene
4.1.12 FSH - glicoproteina cu rol in reglarea ovulatiei si altor functii ovariene
4.1.13 ASLO – anticorpi antistreptolizina O (componenta a streptococului β hemolitic)
4.1.14 CRP – proteina C reactiva
4.1.15 FR – factor rheumatoid
4.1.16 VDRL – antigen cardiolipinic continut in muschiul cardiac al mamiferelor;
4.1.17 TPHA – anticorpi hemaglutinanti pentru Treponema pallidom

4.2 DESCRIEREA PRINCIPALILOR TERMENI SPECIFICI DIN PROCEDURA

4.2.1 CENTRIFUGA seria ???? – aparat electric de separare prin centrifugare a serului din masa electrolitica

4.3 SIMBOLURI SI DENUMIRI

4.3.1 MCL- 01 – Manualul Calitatii
4.3.2 PGL – Procedura generala
4.3.3 PSL – Procedura specifica de analiza

5. ECHIPAMENTE DE INCERCARE SI MIJLOACE DE MASURARE

5.1 CENTRIFUGA seria ????

6. REGULI DE PROCEDURA PENTRU DETERMINARI IMUNOLOGICE

6.1 CONDITII SI/SAU ACTIUNI PREALABILE

a) Modul de recoltare / prelevare a analizelor este conform PGL - 5.4 - 1
b) Inscriptionarea si esantionarea probelor de analizat se fac conform PGL - 5.4 – 1.

6.2 ACTIUNI SI / SAU MASURI PREVENTIVE

6.2.1 PROTECTIA PERSONALULUI

a) In timpul lucrului este obligatorie purtare echipamentului de protectie
b) Personalul manevreaza cu atentie probele de analizat pentru a evita contactul direct cu acestea sau cu reactivii folositi
c) Aparatele trebuie manevrate cu atentie de catre personal.

6.3 REGULI DE PROCEDURA PRIVIND MODUL DE LUCRU

6.3.1 ECHIPAMENT DE LUCRU

a) Centrifuga ????
b) Chiturile ce contin reactivi de lucru

6.3.2 MATERIALE

a) Vacumtainere ce contin proba de analizat
b) Eprubete de sticla de diferite marimi
c) Reactivii necesari determinarilor imunologice

6.3.3 MODUL DE LUCRU PENTRU DETERMINAREA: H. Pylori, AgHBs, HCV, PSA, HIV, HBs, Hbe, HBc, Chalmydia, LH, FSH, ASLO, CRP, FR, VDRL, TPHA

6.3.3.1 Determinarea H. Pylori

Metoda imunocromatografica

Este un test tip sandwich, destinat determinarii calitative a anticorpilor anti-Helicobacter Pylori tip IgG. Pentru producerea lui au fost utilizate antigene recombinante purificate cu inalta specificitate. Este test rapid (max. 20 min.) destinat uzului profesional. Kitul este de unica utilizare.
In caseta de lucru se pun 40 µl ser de cercetat, apoi 3-4 picaturi diluant. Interpretarea rezultatului se face in decurs de 1-5 minute astfel:

- rezultat negativ – este dat de prezenta unei singure linii roz in zona de control a ferestrei de citire
- rezultat pozitiv – este dat de prezenta a doua linii roz in fereastra de citire
- rezultat invalid – in absenta oricarei linii. Se impune repetarea testului

6.3.3.2 Determinarea AgHBs
Metoda imunocromatografica tip sandwich

Se realizeaza cu ajutorlul stripurilor care contin anticorpi, anti-HBs, care vor reactiona cu antigenul corespunzator in cazul unei reactii pozitive. Se introduce stripul in proba de analizat, cu sageata desenata orientata in jos, pana la linia de demarcare. Se tine in pozitie verticala timp de 10 secunde. Se scoate stripul din proba si se aseaza pe o suprafata curata, uscata si neabsorbanta. Se citeste rezultatul dupa 10 minute, dar nu mai mult de 30 minute:
- rezultat negativ – este dat de prezenta unei singure linii roz in zona de control a ferestrei de citire
- rezultat pozitiv – este dat de prezenta a doua linii roz in fereastra de citire
- rezultat invalid – in absenta oricarei linii. Se impune repetarea testului

6.3.3.3 Determinarea HCV
Metoda imunocromatografica tip sandwich
Este un test calitativ care utilizeaza stripuri imbibate cu antigene recombinante purificate cu inalta specificitate. Stripul se introduce timp de 10 secunde in pozitie verticala, in proba de analizat pana la linia de demarcare. Se scoate stripul, iar citirea se realizeaza dupa 10 minute, fara a depasi 30 minute.
Interpretarea se face astfel:
- rezultat negativ – este dat de prezenta unei singure linii roz in zona de control a ferestrei de citire
- rezultat pozitiv – este dat de prezenta a doua linii roz in fereastra de citire
- rezultat invalid – in absenta oricarei linii. Se impune repetarea testului.

6.3.3.4 Determinarea PSA: este un test rapid calitativ si semicantitativ realizat cu ajutorul stripurilor ce contin imbibati anticorpi specifici ce vor reactiona cu PSA din serul cercetat. Senzitivitatea testului este de 4 µg/litru. Sripul se introduce in pozitie verticala in proba de cercetat timp de 10 secunde. Se scoate stripul din proba si se citeste rezultatul in 10-20 minute. Interpretarea rezultatelor se face astfel:
- rezultat negativ – este dat de prezenta unei singure linii roz in zona de control a ferestrei de citire
- rezultat pozitiv – este dat de prezenta a doua linii roz in fereastra de citire
- rezultat invalid – in absenta oricarei linii. Se impune repetarea testului

Pentru testul semicantitativ se fac dilutii seriale, iar fiecare dilutie este testata calitativ ca mai sus. Concentratia PSA poate fi estimata ca ultima dilutie cu rezultat pozitiv la testare.

6.3.3.5 Testul HIV: se realizeaza cu ajutorul stripului caseta ce poate identifica anticorpii anti HIV din plasma sau serul pacientilor infestati cu virusul imunodeficientei umane. In godeul

casetei se pipeteaza o picatura din serul de cercetat care prin migrare va reactiona in caz pozitiv cu antigenul respectiv impregat in strip. Rezulatul se citeste in 1-20 minute si se interpreteaza astfel:

- rezultat negativ – este dat de prezenta unei singure linii roz in zona de control a ferestrei de citire
- rezultat pozitiv – este dat de prezenta a doua linii roz in fereastra de citire
- rezultat invalid – in absenta oricarei linii. Se impune repetarea testului.

6.3.3.6 Anticorpi anti HBs: se realizeaza cu ajutorul stripului caseta ce poate identifica anticorpii anti HBs din plasma sau serul pacientului. In godeul casetei se pipeteaza o picatura din serul de cercetat care prin migrare va reactiona in caz pozitiv cu anticorpul respectiv impregnat in strip. Rezulatul se citeste in 1-20 minute si se interpreteaza astfel:

- rezultat negativ – este dat de prezenta unei singure linii roz in zona de control a ferestrei de citire
- rezultat pozitiv – este dat de prezenta a doua linii roz in fereastra de citire
- rezultat invalid – in absenta oricarei linii. Se impune repetarea testului.

6.3.3.6 Anticorpi anti Hbe: se realizeaza cu ajutorul stripului caseta ce poate identifica anticorpii anti HBe din plasma sau serul pacientului. In godeul casetei se pipeteaza o picatura din serul de cercetat care prin migrare va reactiona in caz pozitiv cu anticorpul respectiv impregnat in strip. Rezulatul se citeste in 1-20 minute si se interpreteaza astfel:

- rezultat negativ – este dat de prezenta unei singure linii roz in zona de control a ferestrei de citire
- rezultat pozitiv – este dat de prezenta a doua linii roz in fereastra de citire
- rezultat invalid – in absenta oricarei linii. Se impune repetarea testului.

6.3.3.7 Anticorpi anti HBc: se realizeaza cu ajutorul stripului caseta ce poate identifica anticorpii anti HBc din plasma sau serul pacientului. In godeul casetei se pipeteaza o picatura din serul de cercetat care prin migrare va reactiona in caz pozitiv cu anticorpul respectiv impregnat in strip. Rezulatul se citeste in 1-20 minute si se interpreteaza astfel:

- rezultat negativ – este dat de prezenta unei singure linii roz in zona de control a ferestrei de citire
- rezultat pozitiv – este dat de prezenta a doua linii roz in fereastra de citire
- rezultat invalid – in absenta oricarei linii. Se impune repetarea testului.

6.3.3.8 Antigen Hbe: se realizeaza cu ajutorul stripului caseta ce poate identifica antigenul HBe din plasma sau serul pacientului. In godeul casetei se pipeteaza o picatura din serul de cercetat care prin migrare va reactiona in caz pozitiv cu anticorpul respectiv impregnat in strip. Rezulatul se citeste in 1-20 minute si se interpreteaza astfel:

- rezultat negativ – este dat de prezenta unei singure linii roz in zona de control a ferestrei de citire
- rezultat pozitiv – este dat de prezenta a doua linii roz in fereastra de citire
- rezultat invalid – in absenta oricarei linii. Se impune repetarea testului

6.3.3.9 Depistare Chlamydia: se realizeaza cu ajutorul stripului caseta ce poate identifica antigenul Chlamydiei din probe cervicale, uretrale si probe de urina la barbati. In godeul casetei se pipeteaza o picatura din proba de cercetat (proba recoltata + 6 picaturi de reactiv de proba A; dupa 2 minute se adauga 6 picaturi de reactiv de proba B si se agita; se realizeaza cat de mult lichid obtinut prin presarea tamponului de peretii tubului de extractie si apoi se arunca tamponul) care prin migrare va reactiona in caz pozitiv cu anticorpul respectiv impregnat in strip. Rezulatul se citeste in 1-20 minute si se interpreteaza astfel:

- rezultat negativ – este dat de prezenta unei singure linii roz in zona de control a ferestrei de citire
- rezultat pozitiv – este dat de prezenta a doua linii roz in fereastra de citire
- rezultat invalid – in absenta oricarei linii. Se impune repetarea testului.

6.3.3.10 Depistare LH – test rapid tip caseta pentru testarea LH din urina in scopul precizarii momentului ovulatiei. Este un test calitativ imuncromatografic. Se vor respecta instructiunile chitului pentru recoltarea urinii. Se pipeteaza toata cantitatea de proba din pipeta continuta in trusa, in godeuri de pe caseta. Se asteapta aparitia dungilor colorate. In dependenta de cocentratia de LH, rezultatul pozitiv se poate observa in 40 secunde. Pentru confirmarea rezultatului negativ, timpul complet de reactie este de 4 minute. Interpretarea rezultatelor: se face conform instructiunilor din chit.

6.3.3.11 Depistare FSH – este un test calitativ, imunocromatografic, destinat determinarii concentratiei de FSH din urina. Se pipeteaza 4 picaturi de proba in godeul casetei. Rezulatul se citeste in 1-20 minute si se interpreteaza astfel:

- rezultat negativ – este dat de prezenta unei singure linii roz in zona de control a ferestrei de citire, sau apar 2 linii, una in regiunea control si alta in regiunea test, dar linia test este mult mai palida decat linia control. Concentratia FSH in acest caz este mai mica de 25 mIU/ml.
- rezultat pozitiv – este dat de prezenta a doua linii roz in fereastra de citire, iar linia test este la fel sau mai intensa decat linia control. Concentratia de FSH prezent in proba este mai mare de 25 mIU/ml.
- rezultat invalid – in absenta oricarei linii. Se impune repetarea testului

6.3.3.12 Determinarea ASLO

Se realizeaza cu ajutorul kitului ASO LATEX. Este un test direct de aglutinare pe lama. Reactivul care face parte din kit, contine particule de latex invelite cu streptolizina O purificata. Aceasta reactioneaza cu anticorpii prezenti in serul pacientilor si aglutineaza.

a) Testul calitativ: pe o placuta se pipeteaza o picatura de ser, peste care se pune o picatura de reactiv. Se omogenizeaza cu capatul plat al baghetei din trusa. Se agita placuta imprimand acesteia o miscare de rotatie si se citeste rezultatul in timp de doua minute. In caz de reactie pozitiva se observa aparitia glutinatelor macroscopice. Aglutinarea arata un nivel al ASLO de minim 200 UI/ml. Absenta glutinarii demonstreaza absenta anticorpilor anti-streptolizina O.

b)Testul semicantitativ: se efectueaza dilutii succesive ale probei cu urmatoarele rapoarte de dilutie: 1/2,1/3,1/4 etc. Ca diluent se poate folosi serul fiziologic. Se testeaza fiecare dilutie in parte prin procedeul descris la pct. A. Nivelul aproximativ al anticorpilor poate fi exprimat

inmultind cel mai mare factor de dilutie pentru care se mai obtine reactie pozitiva de aglutinare cu 200 UI/ml (sensibilitatea reactivului).
Acest test foloseste la monitorizarea tratamentului.

6.3.3.13 Determinarea CRP: testul CRP (test calitativ si semicantitaiv tip latex) se bazeaza pe reactia imunologica dintre anticorpii fata de proteina C-reactiva legati pe particulelel inerte de tip latex si CRP din proba pacientului. Cand reactivul este amestecat cu serul care contine cel putin 6 mg/l CRP dupa maxim 3 minute apar aglutinatele, iar reactia va fi considerata ca fiind pozitiva.
Reactivul poate fi utilizat si pentru determinarea semicantitativa a CRP. In acest scop se fac dilutii seriale, iar fiecare dilutie este testata calitativ. Concentratia CRP poate fi estimata ca ultima dilutie cu aglutinate vizibile.

6.3.3.14 Determinarea FR: este un test calitativ si semicantitativ tip latex, pentru determinarea factorului rheumatoid din serul uman. Reactivul contine particule latex, invelite cu gamma globulina umana. Prezenta FR in serul pacientului in concentratie de 8 UI/ml si peste, provoaca aglutinarea particulelor latex. Reactivul poate fi utilizat si pentru determinarea semicantitativa a FR. In acest scop se fac dilutii seriale, iar fiecare dilutie este testata calitativ. Concentratia FR poate fi estimata ca ultima dilutie cu aglutinate vizibile.

6.3.3.15 Determinarea anticorpilor fata de Treponema Pallidum:
a) testul RPR sau VDRL

Este un test imunologic ce se bazeaza pe reactia dintre anticorpii tip reagina fata de Treponema Pallidum, din ser sau plasma si antigenele VDRL continute in reactivul cu care se efectueaza testarea. Reactia este evidentiata prin prezenta particulelor de carbon aflate in reactiv. Este un test calitativ si semicantitativ.
Folosind pipeta din trusa se pune o picatura din serul sau plasma de cercetat in mijlocul unui cerc de pe cardul alb din trusa. Se adauga o picatura din reactivul VDRL carbon foarte bine omogenizata. Se roteste cardul timp de 8 minute si se observa macroscopic aparitia aglutinatelor. Rezultatele se interpreteaza astfel:
• testul calitativ:
- **rezultat pozitiv**: in centrul cercului de reactie se vad agregate mari (reactie intens pozitiva) sau pe marginea cercului de reactie se vad agregate mici (reactie slab pozitiva)
- **rezultat negativ**: nu se vad agregate. Suprafata de reactie are un aspect omogen-cenusiu.
• testul cantitativ: serurile pozitive pot fi notate in functie de intensitatea reactiei. Titrul reactiei este dat de ultima dilutie la care reactia este pozitiva.

b) TPHA – se foloseste pentru a detecta din serul uman anticorpi anti-Treponema pallidum prin hemaglutinare indirecta. Eritrocitele conservate sunt tapetate cu componente antigenice de T. pallidum. Aceste celule-test, aglutineaza in prezenta anticorpilor specifici. Rezultatele testarii se obtin in 45-60 minute, iar aglutinarea este usor de interpretat si se mentine mult timp.

6.3.4 UNITATI DE MASURA

Pentru alte grupe de determinari rezultatele testelor sunt exprimate astfel:

- **H. Pylori** (testul cu caseta strip) – pozitiv sau negativ
- **AgHBs** (testul cu strip) – pozitiv sau negativ
- **HCV** (testul cu strip) – pozitiv sau negativ
- **PSA –** pozitiv sau negativ
- **HIV –** pozitiv sau negativ
- **Anticorpi anti HBs –** pozitiv sau negativ
- **Anticorpi anti HBe –** pozitiv sau negativ
- **Anticorpi anti HBc –** pozitiv sau negativ
- **Antigen HBe –** pozitiv sau negativ
- **Depistare Chalmydia –** pozitiv sau negativ
- **Depistare LH –** nivel bazal, nivel maxim de LH
- **Depistare FSH –** pozitiv (mai mare de 25 mIU/ml) sau negativ (mai mic de 25 mIU/ml)
- **ASLO** – UI/ml
- **CRP** – mg/litru
- **FR-** – UI/ml
- **VDRL** (testul cu caseta strip) – pozitiv sau negativ

7. MODUL DE INREGISTRARE SI PREZENTARE A REZULTATELOR

7.1 Modul de Evidenta si Prezentare a Analizelor

a) Softul Medis si Registrul de comenzi - RG-5.4CL-01, cuprind urmatoarele :

- numar ID
- data prezentarii pacientului la laborator
- nume / prenume pacient
- varsta
- Cod numeric personal (CNP)
- diagnostic
- persoana care a recoltat
- locul recoltarii – intern, extern
- semnatura pacientului

b) Buletinul de analiza, cod FGL-5.8-01 cuprinde :

- date identificare laborator (denumire, adresa, telefon, fax, email)
- numarul de ordine - ID din Registrul unic de comenzi, cod: **RG-5.4CL-01**, acelasi din softul Medis
- numele si prenumele pacientului
- CNP / varsta pacient
- data recoltarii probelor
- persoana recoltare
- data eliberarii rezultatului

- tipul analizei si rezultatul analizei
- observatii
- valori de referinta (min-max)
- validat de ..

7.2 INREGISTRAREA SI CONSEMNAREA REZULTATELOR

La fel ca si evidenta analizelor si inregistrarea si consemnarea rezultatelor se face in softul specializat Medis.
Buletinul de analize este rezultatul printarii ca atare din programul respectiv.
Validarea buletinelor de analize se face prin parafare de catre seful de laborator.

8. RESPONSABILITATI SI LIMITE DE AUTORITATE

8.1 LIMITE DE AUTORITATE

Pentru executarea in bune conditii a prezentei proceduri, sunt date in schema de mai jos limitele de autoritate:
- sef laborator
- responsabil de analiza.

8.2 RESPONSABILITATI

8.2.1 SEFUL DE LABORATOR

- valideaza rezultatele din buletinele de analize prin parafare si semnatura.

9. INREGISTRARI

Rezultatele analizelor se trec in Condica zilnica, cod CL-01-01

Spitalul Clinic de Boli Infecţioase"Sf.Parascheva„ Iaşi
Laboratorul de analize medicale
Str.Octav Botez Nr 2

PROCEDURA SPECIFICĂ

EXAMENUL BACTERIOLOGIC AL EXUDATULUI FARINGIAN, NAZAL SI AL SECRETIILOR

Cod PSL – 07

A LABORATORULUI DE ANALIZE MEDICALE

STANDARD DE REFERINTA: SR EN ISO 15189: 2007

EDITIA: 1
REVIZIA: 0
Data: 01.03.2011

DIFUZAT IN REGIM CONTROLAT: EXEMPLAR Nr.

DESTINATAR :…….

APROBAT	**VERIFICAT**
Manager	**Manager Calitate**
Prof.Dr. Carmen Dorobăţ	**Dr. Diana Matei**

Elaborat:
Manager Tehnic **Şef Compartiment Laborator**
Dr. Rodica Fântânaru

Data aprobarii : 01.03.2011
Data aplicarii : 15.03.2011

Avertisment : Documentul de fata este proprietatea **Spitalul Clinic de Boli Infecţioase"Sf.Parascheva„ Iaşi** - Laborator de analize medicale.
Reproducerea si difuzarea documentului sunt in exclusivitate dreptul societatii. Copiile sunt numerotate si controlate.

LISTA DE DIFUZARE / RETRAGERE

Locul difuzării	Primit				Retras			
	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură
R. C	0.	01.03. 2011	Dr. Diana Matei					
Manager General	1.	01.03. 2011	Prof.Dr. Carmen Dorobăţ					
Manager Tehnic		01.03. 2011	Dr. Rodica Fântânaru					
R. C	2.	01.03. 2011	Dr. Diana Matei					
Şef Compartiment Laborator	3.	01.03. 2011						
RENAR	4.	01.03.2011	Ing. Cristian Nichita					

INDICATORUL REVIZIILOR

Nr. Crt	Data	Editia/ revizia	Identificari modificare Capitol, subcapitol, pagina modificata, continut modificari	Functia si semnatura		
				Elaborat	Verificat	Aprobat
1	01.03. 2011	Ed. 1/ Rev. 0/	Elaborat PSL -07, in editia 1, revizia 0	Manager Tehnic Dr. Rodica Fântânaru Şef Compartiment Laborator	Managerul Calitatii Dr. Diana Matei	Manager Prof.Dr. Carmen Dorobăţ

0. CUPRINS

CAPITOLUL	DENUMIRE
0	Cuprins
1	Scop
2	Domeniu de aplicare
3	Documente de referinţa
4	Definiţii şi abrevieri
5	Descriere procedura
6	Responsabilitaţi
7	Inregistrari şi anexe

1. Scopul

Scopul acestei proceduri este de a prezenta metodologia diagnosticului bacteriologic al exsudatului nazofaringian si al secretiilor otice, oculare si urogenitale, in conformitate cu cerintele impuse de normele de calitate in viguare, in vederea diagnosticului anginelor produse de streptococii β-hemolitici si bacilul difteric preum si a altor infectii, conform cu programele M.S. de monitorizare şi raportare a izolărilor cu aceşti germeni atât la bolnavi cât şi purtători .

2. Documente de referinţă şi conexe

2.1. Documente de referinţă

SR EN ISO 15189:2007 – Laboratoare medicale. Cerinţe particulare pentru calitate şi competenţă;

SR EN ISO 15190:2003 - Laboratoare medicale. Cerinte pentru securitate

SR ISO /TR 22869 – Ghid pentru implementarea in laboratoare ISO 15189:2003

2.2. Documente conexe

- "Tratat de Microbiologie Clinică"- Dumitru Buiuc, Marian Neguţ, Ed. Medicală 2008
- Buletinul Ministerului sanatatii nr. 2 / 1968 – ''Instructiuni nr. 97621 din 12.XII.1967, privind diagnosticul de laborator al difteriei ''.
- Metode de laborator vol.2 Ministerul Sanatatii Editura Medicala Bucuresti 1977 ;
- Bacteriologie medicala vol.2 . Autori V. Balbaie si N.Pozsgi Editura medicala 1985
- Laboratorul clinic in infectii – Matei Bals . Editura Medicala Bucuresti 1982
- Practica laboratorului clinic – Maria Titeica si Speranta Halunga Marinescu . Editura Academiei 1984
- Ordinul Ministerului Sanatatii nr. 190 / 26 mai 1982 pentru stabilirea atributiilor personalului sanitar si a normelor tehnice privind prevenirea si combaterea infectiilor intraspitalicesti ;
- Infectiile nosocomiale de Liana Monica Deac – Editura DACIA ; Cluj Napoca 1997.
- Ordinul nr. 411/ 22.07.1998 privind Normele specifice de protectie a muncii pentru activitati in domeniul sanatatii . Directiva numarul 90 / 679 / CEE .
- BIOS nr. 4 / decembrie 1978 – Institutul Cantacuzino – cap. Diagnosticul de laborator al infectiilor produse de streptococci β - hemolitici .
- Buletinul Ministerului Sanatatii nr. 4 / 1978 privind Ordinul nr 181 M.S. / 1978 pentru stabilirea actiunilor precum si a atributiilor unitatilor sanitare in prevenirea si combaterea infectiilor streptococice
- Manual de laborator clinic – Alteras I. si Cajal N. – Editura Medicala Bucuresti 1966 .
- Microbiologie medicală-Ghid pentru studiul şi practica medicinei, Ed.Gr T Popa Iasi 2003.

3. Definitii si Abrevieri

Exsudat faringian: produs biologic/patologic recoltat de la nivelul faringelui(văl palatin,**amigdale,pilieri)**
Exsudat nazal:produs biologic/patologic recoltat de la nivelul mucoasei nazale.
Nazofaringele sau faringele nazal este partea superioara a faringelui (epifaringele) care se gaseste situat inapoia cavitatii nazale , comnicand cu fosele nazale prin choane In partea superioara (tavanul sau fornixul faringelui) in submucoasa , se afla amigdala faringiana ; prin hipertrofia acesteia se formeaza in special la copii mici asa numitele vegetatii-adenoide .

Bucofaringele sau faringele bucal reprezinta partea din mijloc a faringelui (.mezofaringele) pe peretii sai laterali fiind asezati amigdalele palatine .

Laringofaringele sau faringele laringean este partea inferioara a faringelui (numit si hipofaringe) ce prezinta pe peretele anterior aditus laringis delimitat de epiglota .

Exudatul faringian (exsudo = a lasa sa curga picurand - lat.) reprezinta secretia glandelor seromucoase situate in tunica mucoasa ce captuseste cavitatea faringiana (endofaringele) Tehnica recoltarii exudatului nazofaringian se efectueaza obisnuit in scopul unui diagnostic microbiologic si in rare cazuri pentru investigare citologica , atat pentru elucidarea etiologiei diferitelor forme de angina , cat si pentru cazurile suspecte de '' infectie de focar '' sau de ‘’ purtatori de germeni ‘’ patogeni .

Secretia nazofaringiana reprezinta exsudatul mucoaselor nazo-faringiene si flora bacteriana respectiva in conditii normale sau mai ales in cazul diferitelor infectii ca : rinite , sinuzite , faringoamigdalite (angine) , laringite , pulpite ; la acestea trebuie adaugate leziunile inflamatorii locale in cursul unor infectii generale (tuse convulsiva , meningite) – cf. Metode de laborator vol.2 Ministerul Sanatatii Editura Medicala Bucuresti 1977 pag. 105.

Streptococi – sunt bacterii cuprinse in fam. Streptococacceae , coci Gram pozitivi , imobili , dispusi in lanturi scurte , in diplo sau izolati , catalazo negativ .
Streptococi fecal (Enterococi) – sunt bacterii cuprinse in fam. Streptococacceae , coci Gram pozitivi , imobili , dispusi in lanturi scurte , in diplo sau izolati , care se dezvolta la temperatura de 44^0 C ± $0,5^0$ C , in prezenta a 40% saruri biliare si a azidei de sodiu .
Staphylococi – speci de coci Gram pozitivi din fam. Micrococacceae , imobili care fermenteaza manita , catalazo pozitivi , hemolitici sau nehemolitici .
Microorganisme – bacterii, drojdii si mucegaiuri care formeaza colonii numarabile in conditiile specificate in prezentele standarde internationale enumerate la pct. 3
Bacterii mezofile – cuprinde microorganismele care se dezvolta intre 22^0 – 37^0 C , capabile sa formeze colonii vizibile pe medii nutritive , in anumite conditii (UFC) .
Fungi – sunt specii apartinand Increngaturii Mycophyta , fiind talofite heterotrofe lipsite complet de pigmenti asimilatori , corpul lor fiind reprezentat de un miceliu unicelular sau pluricelular , format din filamente numite hife .
Infectii nosocomiale – ‘’ infectia dobandita ca un rezultat al spitalizarii sau al tratamentului primit in spital si care nu este in incubatia bolii sau in momentul internarii ‘’ (Infectiile nosocomiale de Liana Monica Deac – Editura DACIA;Cluj Napoca 1997. pag nr. 9)
Pseudomonas aeruginosa – sunt bacili mobili , nesporulati , Gram negativi , care elaboreaza doi pigmenti caracteristici *piocianina* si *fluorosceina* . Specia poate fi diferentiata de alte speci

de pseudomonadinae fluorescente , prin cresterea la 42^0 C , hidroliza cazinei si metabolizarea de trifenil tetrazoliu clorura (TTC).

3.1 Abrevieri
AS: mediu agar cu 5 % sânge de berbec
LA: latex aglutinare
PS: Procedura specifică de analiză
ST: Specificaţie tehnică
Str. B hem = Streptococ β hemolitic
Staph. hem. = Staphylococ hemolitic
SF tamponat – ser fiziologic tamponat
Ord. M.S. nr. = Ordinul Ministerului Sanatatii nr.
SH – streptococ hemolitic
BD – bacil difteric .
Dg. - diagnostic

4. Principiul metodei:

Flora bacteriană sau micotică existentă în produsele biologice creşte pe medii de cultură (medii nutritive şi de îmbogăţire). Din coloniile suspecte, dacă identificarea nu este certă, se fac însămânţări pe medii de izolare. După identificarea certă se testează sensibilitatea tulpinii la antibiotice sau chimioterapice prin cultivarea pe medii specifice unde tulpinile sunt puse în contact cu concentraţii standard de antibiotice/chimioterapice.
Aspectul practic, cel legat de testarea sensibilităţii la antibiotice/chimioterapice trebuie uneori complectat, în funcţie de natura germenului, şi cu tipizarea serologică a tulpinilor bacteriene. Acest ultim aspect, tipizarea tulpinilor, se face în cazul suspicionării unor etiologii bine stabilite şi numai în centrele specializate, de referinţă, ale DSP şi ale Institutului Cantacuzino.

5. Resurse materiale

5.1.Echipamente de măsurare şi/sau analiză
- Bec cu gaz
- Termostat pentru bacteriologie IT25 seria ?????
- Frigider
- Hota cu flux laminar ????? seria ????
- lampa bactericida BIOCOMP seria ????
- Microscop ??? tip ????? seria ?????

5.2.Materiale
- Recipiente de recoltare sterile, închise ermetic, cu sau fără mediu de transport (după caz)
- Medii de cultură (deshidratate)
- Plăci Petri sterile
- Ansă bacteriologică

- mucus/exudat (de pe toate mucoasele accesibile recoltării şi susceptibile a fi focar de infecţie), urină, materii fecale.
- autoclav
- etuvă
- termostat
- microscop optic
- hotă cu flux laminar
- frigider
- balanţă tehnică
- ph-metru
- lampă cu ultraviolete
- bec de gaz Bunsen
- densimat/scală nefelometrică Mc Farland
- tampoane de exsudat
- cutii Petri
- medii de cultură
- discuri pentru antibiogramă şi pentru testul la bacitracină
- anse
- pense
- pipete automate
- vârfuri albastre şi galbene pentru pipete automate
- stative eprubete
- eprubete10/10
- cristalizor
- soluţii dezinfectante
- recipiente pentru soluţii dezinfectante
- lupă
- lame de microscop,lamele
- truse pentru coloraţia Gram
- coloranţi:albastru de metilen
- trusa de latexaglutinare
- perhidrol
- ser fiziologic
- ulei de cedru
- ulei de parafină
- containere pentru colectarea materialelor contaminate incinerabile
- hartie de filtru

6. Reguli de procedură şi măsuri de siguranţă

6.1.Condiţii si/sau acţiuni prealabile.

a) Modul de analiză, acceptare şi înregistrare a contract se face conform PG – 4.4CL.

b) Modul de păstrare şi protejare a produselor ce urmeaza a fi analizate, se face conform PG–5.4CL - 1.
c) Inscripţionarea şi eşantionarea probelor de analizat se face conform PGL – 5.4.1.
d) Pregătirea probei.
Produsul patologic se recoltează specific în funcţie de localizare. În funcţie de cerinţele de creştere ale germenului suspectat şi de distanţa în timp între recoltare şi etapa următoare (însămânţarea) recipientul de recoltare este sau nu prevăzut cu mediu de transport.
e) Pregătirea echipamentelor necesare analizei
Se folosesc recipiente de recoltare sterile, închise ermetic, cu sau fără mediu de transport după caz), medii de cultură (deshidratate), plăci Petri sterile,ansă bacteriologică, bec cu gaz şi termostatul pentru bacteriologie.

6.2.Acţiuni şi/sau măsuri preventive.

6.2.1 Protecţia personalului.

În timpul efectuării analizei, executanţii trebuie să poarte halate albe curate şi mănuşi de protecţie.

6.2.2. Protecţia mijloacelor de măsurare şi/sau analiză.

Echipamente de măsurare şi/sau analiză sunt depozitate în locuri fixe, uşor accesibile în timpul efectuării analizelor.

6.2.3.Verificarea stării de funcţionare şi confirmare metrologică.
-se verifică funcţionarea termostatului (integritatea şi aspectul exterior al aparatului , integritatea şi starea cablurilor de alimentare şi de legătură), a becului cu gaz şi a ansei bacteriologice. Dacă se constată deteriorări sau aspecte neconforme cu cerinţele de protecţia muncii se opreşte lucrul şi se anunţă Directorul tehnic administrativ în vederea înlăturării sau remedierii.
- se verifică probele care trebuie să fie numerotate şi înregistrate în registru de evidenţă a pacienţilor şi se completează în registrul de microbiologie.
- recipientele de recoltare sunt folosite doar dacă ambalajul care confirmă sterilitatea este intact. Pacienţii sunt instruiţi privind recipientele şi modul de recoltare. Recoltarea probelor în laborator se face prin proceduri strict definite. Mediile sunt reconstituite şi turnate steril doar în cantităţi suficiente pentru o perioadă limitată conform indicaţiilor producătorului. Turnarea mediilor în plăci se face în hota laminară cu flux vertical. După turnare şi până în momentul folosirii mediile sunt păstrate în frigiderul special destinat.

6.3. Pregatirea Materialelor de Lucru si Decontaminare

Proceduri de control a calităţii:

Recipientele de recoltare sunt folosite doar dacă ambalajul care confirmă sterilitatea este intact. Pacienţii sunt instruiţi privind recipientele şi modul de recoltare. Recoltarea probelor în laborator se face prin proceduri strict definite.
Din fiecare şarjă de medii de cultură, după reconstituire se efectuează o testare prin incubarea fără inocul, la termostat, în etape succesive de 16-18 ore a unui număr de 3 plăci din fiecare tip folosit. După 72 ore de incubare plăcile trebuie să fie sterile.

6.3.1 Pregatirea materialelor de lucru Materialele folosite pentru recoltarea probelor sunt sterile si de unica folosinta iar materialele folosite in tehnicile de lucru sunt sterilizate cf. Standard SR ISO 7218 / noiembrie 2000 pct 6.1 - pag. 15).
6.3.2 Decontaminarea . Dupa folosire materialele si continutul lor se decontamineaza inainte de curatare sau aruncare fie prin sterilizare in caldura umeda si/sau decontaminare prin imersare in solutii dezinfectante cf. Standard SR ISO 7218 / 2000 pct. 6.6.
Materialele se spala numai dupa ce au fost decontaminate .
Pipetele Pasteur se folosesc o singura data .

6.4 Preparare si Sterilizare Medii de Cultura si Reactivi.
Prepararea si sterilizarea mediilor de cultura se efectueaza (cf. Standard SR ISO 7218 / 2000) respectandu-se si recomandarile furnizorului de mediu functie de tipul de mediu folosit (medii deshidratate sau preparate din componente de baza .)

*****)** Mediile de cultura, solutiile de diluare trebuiesc sterilizate conform cap.6.1din ISO 8261 / 1989.

***) Materialele din laborator folosite pentru dilutiile esantioanelor de analizat trebuie sa corespunda ISO 8261.

Determinarea si ajustarea pH-ului mediilor se efectueaza dupa sterilizarea si racirea la 25^0 C cu o toleranta de ± 0,2 unitati (cf. Standard 7218 / 2000 pct. 7.2.2. Ajustarea pH-ului se realizeaza cu solutii de NaOH (40 g/litru circa 1 mol / litru), sau o solutie de HCl (n 36,5 g / litru, circa 1 mol / litru) (cf. Standard 7218 / 2000 pct. 7.2.2.)

6.5 Tehnici de Examinare si Prevenire a Contaminarii

6.5.1. Masuri de igiena in timpul examinarii .

Trebuie luate masuri pentru a lucra , pe cat posibil in conditii aseptice , ca de exemplu :

- se asigura ca zona de lucru sa fie curata , si sa nu existe curenti de aer (usi si ferestre inchise) ;
- se decontamineaza suprafata de lucru , inainte si dupa lucru , cu un dezinfectant adecvat ;
- se asigura inainte de inceperea lucrului , ca sunt procurate toate cele necesare pentru a duce analiza la bun sfarsit ;
- in cazul in care se lucreaza in boxa aseptica , inainte de a incepe lucrul trebuie folosite manusi sterile sau dezinfectanti pentru maini (de exemplu , un amestec de polialcooli) , pentru evitarea contaminarii incrucisate ;

- cand nu se lucreaza in boxa aseptica , se deschid eprubetele si flacoanele in vecinatatea flacarii , tinandu-le in pozitie cat mai inclinata ;
- pe cat posibil , se lucreaza fara a face miscari inutile ;
- se sterilizeaza ansele , inainte si dupa utilizare , la flacara , pentru evitarea improscarii de substante si microorganisme , este de dorit sa se foloseasca un incinerator . Daca este posibil , se utilizeaza anse sterile de unica folosinta.
- se introduc pipetele , spatulele , etc. utilizate , in recipiente speciale , care contin un dezinfectant adecvat (de exemplu , *solutie de hipoclorit de sodiu* pentru pipete ,) , inainte de a le decontamina ;
- se introduc cutiile Petri , mediile de cultura si orice alt echipament care ar putea contine microorganisme , in recipiente speciale , inaintea decontaminarii , care precede operatia de spalare ;
- se introduc materialele de unica folosinta , in recipiente adecvate , inaintea decontaminarii sau incinerarii ;
- se indeparteaza imediat orice portiune de produs varsat in timpul lucrului , cu ajutorul tampoanelor de vata sau de orice material adecvat , impregnat cu etanol 70 % (V/V) , sau cu orice alt dezinfectant , apoi se curata si se dezinfecteaza suprafata , inainte de a continua lucrul .

(cf. SR ISO 7218 – pag. 21)

Manipularea produselor care ar putea contine bacterii patogene (*Salmonella , Listeria monocytogenes* etc.) sau toxine , necesita masuri speciale , descrise in publicatiile de specialitate . Se recomanda urmatoarele :

- boxa aseptica pentru toate manipularile necesare efectuarii analizelor ;
- dispozitive mecanice de aspirare / pipetarea cu gura este interzisa .

Pentru a se evita formarea aerosolilor , cauza principala a contaminarii mediului inconjurator si a infectarii se acorda o atentie deosebita la urmatoarele manevre :

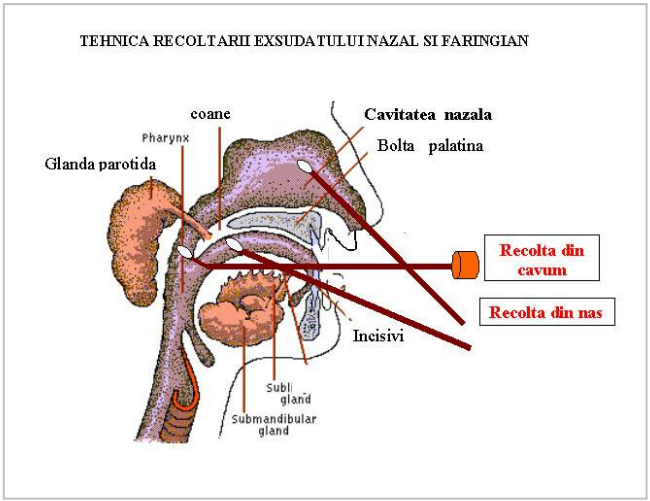
- cand se deschid cutii Petri , eprubete si flacoane ;
- cand se folosesc agitatoare , seringi , centrifuge etc. ;
- cand se golesc pipetele prin suflare ;
- cand se sterilizeaza ansele de inoculare , umede sau acele ;
- cand se deschid fiole care contin culturi liofilizate (cf. SR ISO 7218 – pag. 20 – 22.)

6.6.Recoltarea Probelor,Transportul si Receptia lor

6.6.1. Recoltarea exsudatului nazofaringian .

Prelevarea se face *dimineata pe nemancate* , in absenta unui gargarism cu antiseptice , sau cel putin dupa 4 ore de la ingerarea de alimente . Persoana se aseaza pe un scaun cu capul aplecat pe spate si cu fata in dreptul unei surse de lumina puternica. Se deschide gura la maximum şi se apasa limba , pentru a evidentia peretele posterior al faringelui , amigdalele , pilierii si valul palatin . Pentru nazofaringe , se foloseste un tampon lung incurbat (steril) , insistandu-se in special asupra zonelor cu eritem , punctelor cu puroi , pseudomembranelor si asupra secretiei mucopurulente de pe peretele posterior .

Se recolteaza cel putin 2 tampoane , iar in caz de suspiciune de difterie – 3 tampoane .(Metode de laborator vol.2 Ministerul Sanatatii Editura Medicala Bucuresti 1977 – pag. 108).
In toate infectiile superficiale si difuze , recoltarea se face cu *tamponul* (nazal , nazofaringian din cavum , amigdalofaringian)
In leziunile circumscrise cu depozite sau cu false membrane , precum si in leziunile *ulcerative* , recoltarea se face de preferinta *tintit* , cu o *ansa rigida de platina* .
La nevoie (copii si persoanele care nu coopereaza) se poate folosi un tampon mic , cu care se sa se preleveze din leziuni evitand sa se atinga *limba* si *restul mucoasei bucale* , care contin un numar imens de germeni diferiti .
Prelevarea de pe epiglota se face cu tampon fie direct , daca epiglota devine vizibila atunci cand se deprima bine baza limbii cu un apasator metalic ingust , sau orbeste cu tamponul aplicat pe un apasator de limba , pe care trebuie sa-l depaseasca putin , punand bolnavul sa faca expiratii puternice .
Se fac dupa caz , prelevari unice sau concomitent 3 prelevari :nazala , nazofaringiana) din cavum) si amigdalofaringiana (**imaginea nr. 1**) – cf. Laboratorul clinic in infectii – Matei Bals Editura Medicala Bucuresti 1982 pag. 154)



Se fac dupa caz prelevari unice sau concomitent 3 prelevari:
- nazala,
- nazofaringiana (din cavum) - amigdalofaringiana (Imaginea nr. 1)

Laboratorul clinic in infectii – Matei Bals Editura Medicala Bucuresti pag. 154)

6.6.2. Recoltarea probelor în infecţii otice .
Recoltarea probelor se face ţinând cont că etiologia şi patogenia otitelor medii şi otitelor externe sunt complet diferite.
Recoltarea exsudatului din conductul auditiv se face cu tamponu, având grijă ca acesta să fie îndreptat înspre locul leziunii**.**
Transportul trebuie asigurat pentru însămânţarea în cel mult o oră.(Metode de laborator vol.2 Ministerul Sanatatii Editura Medicala Bucuresti 1977 – pag. 92).

6.6.3. Recoltarea probelor în infecţii oculare .

Infecţiile oculare interesează mai frecvent organelle anexe – pleoapele şi conjunctiva – decât globul ocular propriu-zis. Intrucât conjunciva prin porţiunea bulbară vine în contact strâns cu cornea, se constată adesea o infecţie dublă (*keratoconjunctivita*).
Recoltarea se face fie cu tamponul din fundul de sac conjunctival, fie cu concursul oftalmologului prin raclarea corneii. (Metode de laborator vol.2 Ministerul Sanatatii Editura Medicala Bucuresti 1977 – pag. 92).
Transportul trebuie făcut imediat, întrucât marea majoritate a germenilor din leziunile conjunctivale au o viabilitate redusă în mediul extern. Este de preferat ca însămânţarea să se facă pe loc .(Metode de laborator vol.2 Ministerul Sanatatii Editura Medicala Bucuresti 1977 – pag. 92).

6.6.4 Recoltarea probelor din secretii si supuraţii.

Prelevarea probelor din supuratii adesea este unica si irepetabila .
Leziunile cronice sunt sarace in bacterii de aceea se impun prelevate probe cu volum mai mare decat din leziunile acute .
Unele bacterii anaerobe sunt omorate dupa cateva secunde de contact cu oxigenul atmosferic , altele precum *Bacteroides , Clostridium perfrigens , peptostreptococcus* supravietuiesc 30 – 90 minute in prezenta a **2 – 8 %** oxigen .
In lipsa containerelor speciale pentru anaerobi , puroiul recoltat prin punctie cu seringa este transportat la laborator prin procedeul *''seringa anaeroba ''* ce consta in eliminarea bulelor de aer din seringa si obturarea acului cu un dop steril**)** (Tratat de microbiologie clinica . Autori: Dumitru Buiuc si Marian Negut . Editura Medicala Bucuresti 1999 – pag. 205) .

TABEL nr. 1

cu bacterii izolate in cultura pură şi cantitati > 10^5 UFC / g. de tesut biopsic din plagi traumatice (dupa Robson si colab 1973 **)** (Tratat de microbiologie clinica . Autori: Dumitru Buiuc si Marian Negut . Editura Medicala Bucuresti 1999 – pag. 202) .

Specii	% din totalul izolatelor
Staphylococcus aureus	40 %
Escherichia coli	16 %
Pseudomonas aeruginosa	12 %
Klebsiella-Enterobacter	8 %
Bacteroides spp.	7 %
Staphylococcus epidermidis	6 %
Streptococi β hemolitici	5 %
Corynebacterium spp.	3 %
Proteus spp	2 %
Providencia spp.	1 %

Prelevarea cantitativa cu tamponul . Se alege o arie a plagii lipsita de tesut necrotic , se umecteaza un tampon din vata hidrofila cu solutie *Ringer lactozata* si se invarte varful tamponului , timp *de 5 secunde* , pe o arie de *1 cm*^{2} a plagii , suficient de ferm pentru a determina o usoara sangerare din tesutul subiacent. Aceasta da garantia prelevarii din tesut viabil . Se imerseaza tamponul intr-un bulion tioglicolat si se expediaza la laborator .
Esantionajul corect de la nivelul denudarilor mari impune prelevari din mai multe puncte ale suprafetei lezate (Tratat de microbiologie clinica . Autori: Dumitru Buiuc si Marian Negut . Editura Medicala Bucuresti 1999 – pag. 206) .
Prelevari biopsice . O arie fara escara este spalata cu solutie salina izotona sterila pentru indepartarea exsudatului stagnant sau a eventualelor agenti topici *antimicrobieni* . Prelevarea se face cu perforatoruldermic de *4 mm* . Anestezia nu este necesara in cazul plagilor . Proba se expediaza la laborator in tub ermetic , pentru examinarea imediata (Tratat de microbiologie clinica . Autori: Dumitru Buiuc si Marian Negut . Editura Medicala Bucuresti 1999 – pag. 205).

6.6.5 Prelevari din colectii purulente.

Din leziuni acesibile punctiei (abcese superficiale , colectii din cavitatile seroase) , puroiul trebuie aspirat cu un ac suficient de gros (pentru a evita punctia oarba in cazul puroiului vascos) adaptat la seringa etansa . (Tratat de microbiologie clinica . Autori: Dumitru Buiuc si Marian Negut . Editura Medicala Bucuresti 1999 – pag. 206) .

6.6.6. Eşantionare

Pentru probe deosebite necuprinse in standarde , se recomanda ca partile interesate sa se puna de acord asupra acestui subiect (cf. SR ISI 7218 pag.20)
Esantionajul corect de la nivelul denudarilor mari , (in cazul plagilor intinse) , impune prelevari din mai multe puncte ale suprafetei lezate (Tratat de microbiologie clinica . Autori: Dumitru Buiuc si Marian Negut . Editura Medicala Bucuresti 1999 – pag. 206) .

6.6.7. Transportul probelor .

Transportul produsului in cazul in care nu a fost recoltat la laborator , trebuie sa fie asigurat in cel mult **2 ore** . Daca se presupune prezenta de anaerobi timpul trebuie redus la cel mult **1 ora** si concomitent incunostiintat laboratorul pentru *regenerarea* mediilor (Metode de laborator vol.2 Ministerul Sanatatii Editura Medicala Bucuresti 1977 – pag. 88).

6.6.8. Recepţia probelor .

Personalul din laborator verifica la receptia probelor , starea acestora . Daca starea lor este nesatisfacatoare , sau sunt incorect recoltate , laboratorul , in general , poate refuza probele .
In situatii speciale , personalul le poate analiza , dar trebuie sa semnaleze rezerve asupra validitatii rezultatelor .
Probele admise in laborator trebuie sa aiba toate datele de identificare , astfel incat sa poata fi urmarite pana la redactarea buletibului de analiza .
Acestea constau in :

- data si ora recoltarii probei ;

- ora primirii probei in laborator ;
- informatii despre operatia de recoltare, conditii de recoltare (au fost facute sub tratament chimioterapic , sau recontrol dupa tratament sau de la contacti focar , etc.)
- cine a efectuat recoltarea probelor ;
- numele solicitantului si adresa ;
- profesia
- varsta ;
- locul de munca sau adresa colectivitatii de copii unde s-a recoltat proba ;

Pana la inceperea analizelor , probele trebuie depozitate in conditii care sa previna orice modificare a numarului de organisme prezent .
In vederea evitarii contaminarii mediului si a probelor luate in lucru , se recomanda sa se lucreze in incaperi speciale sau in boxa aseptica .
Protectia mediului impotriva contaminarii are o deosebita importanta in timpul esantionarii probei luate in lucru mai ales a acelor probe provenite de la bolnavi cu suspiciune de difterie , scarlatina etc. .
Aceste activitati trebuie efectuate in spatii care sa asigure securitate.

Probele se manipuleaza astfel incat sa se evite orice risc de contaminare . Pentru a se realiza aceasta , se au in vedere urmatoarele precautii :

- cand nu se lucreaza in boxa aseptica , se lucreaza in vecinatatea flacarii ;
- pentru produsele ambalate , se curata suprafata ambalajului , la locul de deschidere iar flaconul de sticla se flambeaza ;
- orice instrument care este folosit pentru lucrul probei si inlaturarea ambalajului (foarfece sau bisturiu pt. taiat sfoara , pensa pt. inlaturarea capacului etc.) trebuie sa fie flambat si/sau sterilizat ;
- orice instrument care este folosit pentru isamantarea probei (pipete , etc.) trebuie sa fie sterile ;

Se noteaza cu grija , datele de identificare a probelor pe flaconul de recolta .

7. DIAGNOSTICUL DE LABORATOR.

7.1 Exsudatul nasofaringian

Diagnosticul de laborator in cazul exsudatelor faringiene se efectueaza , aproape exclusiv pe baza culturilor obtinute,(cu exceptia diagnosticului anginei *Plaut – Vincent*), fiind dificila din cauza florei bacteriene normale , abundente si foarte variate .
Asa cum se observa **in tabelul nr. 1 ,** unele din speciile mentionate in tabel pot fi ocazional gasite in angine , gingivite , carii dentare etc. , astfel incat stabilirea semnificatiei patogene a germenului sau germenilor respectivi nu este de loc usoara .
Unele specii au valoare etiologica (şi epidemiologica) certa atat in situatii de portaj cât şi in forme clinice manifeste : *streptococ β hemlitic , Corynebacterium diphterae .* In unele forme clinice , stafilococii coagulazo-pozitivi si unii bacili Gram -- , in special Klebsiella , si Pseudomonas , pot avea de asemenea o semnificatie patogena .

Tabel nr. 1 <u>Flora bacteriană a căilor respiratorii superioare</u>

Grupul de germeni	*Genul sau specia*	Localizare				
		Gura	Oro-faringe	Amig-dale	Naso-faringe	Nas
Coci Gram+ aerobi si anaerobi	Micrococcus	+	+	+	--	--
	Staphylococcus epidermidis	+	±	+	+	+
	Staphylococcus aureus	+	±	+	+	+
	Strept.α-hemolitic (mitis , salivarius)	+	+	±	±	±
	Streptococcus β-hemolitic	--	±	±	±	--
	Streptococcus pneumoniae	+	+	+	+	+
	Enterococcus	+	--	+	+	±
	Peptostreptococcus	+	--	±	--	--
	Grupul Neisseria	+	+	--	+	+ *
	Veillonella	+	--	--	--	±
Bacili Gram +	Lactobacillus	+	--	--	--	--
	Bacillus	+	--	--	--	--
	Corynebacterium	+	±	+	+	+ **
	Actinomyces	+	--	+	--	--
Bacili Gram – aerobi	**Enterobacteriaceae (E. coli , Klebsiella , Enterobacter)**	+	+	--	±	±
	Pasteurella	--	±	--	--	--
	Acinetobacter	--	±	--	+	
	Haemophillus	+		+	+	--
	Moraxella	--	--	--	±	±
	Pseudomonas	--	±	--	±	±
Bacili Gram --	Leptotrix bucalis	+	--	--	--	--
	Bacteroides		±	+	--	--
	Fusobacterium	+	±	+	--	--
Alte grupe sistema-tice	**Treponema**	+	+	+	--	--
	Borellia	+	+	+	--	--
	Vibrio sputorum	+	--	--	--	--
	Levuri (Candida)	+	+	--	±	--
	Mycoplasma	+	--	--	+	+

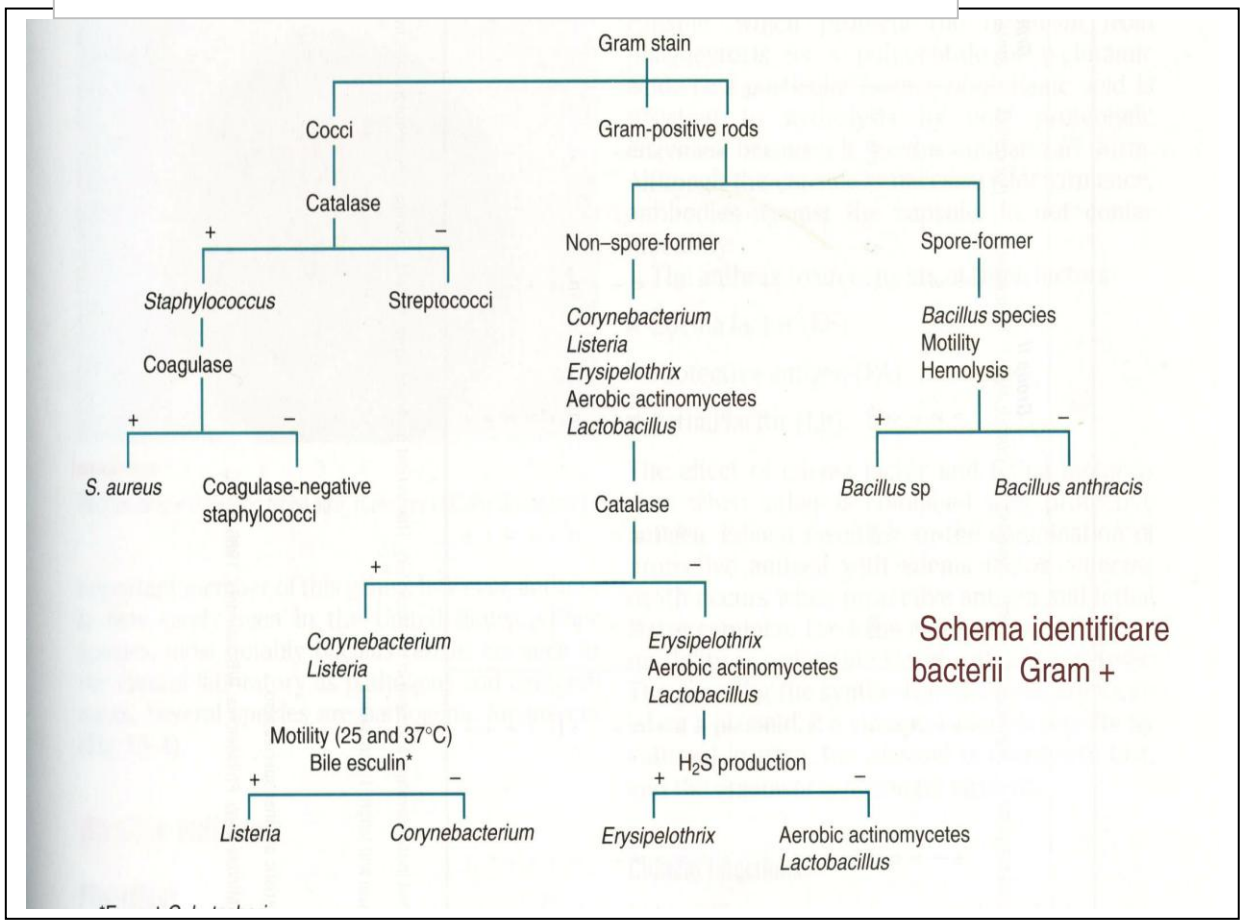
* Neisseria meningitidis ; ** Corynebacterium dyphteriae.

(Metode de laborator vol.2 Ministerul Sanatatii Editura Medicala Bucuresti 1977 – pag. 107).

La bolnavi cu o situatie fiziologica precara si dupa tratament cu antibiotice , in mod frecvent apar angine cu Candida .

Izolarea din faringe a unor germeni precum *Streptococcus pneumoniae , Klebsiella , Pseudomonas , Haemophillus* , reflecta mai degraba procese patologice ale cailor respiratorii *inferioare* (edeme supraglotale , laringite , bronsite , pneumonii) .
Rolul germenilor anaerobi este incă insuficient cunoscut cu exceptia asociatiei fusospirilara (angina Plaut-Vincent / angina ulceromembranoase) iar *Bacteroides* a fost gasit in angine ulceronecrotice, pulpite, gingivite. O asociatie intre germeni aerobi (streptococi , stafilococi) si *anaerobi* se observa frecvent in anginele *ulceronecrotice* . (Metode de laborator vol.2 Ministerul Sanatatii Editura Medicala Bucuresti 1977 – pag. 111).

Schema de identificare a cocilor şi bacililor Gram +



na este *streptococul de grup A* denumit si *Streptococcus pyogenes* . Diagnosticul de laborator are in vedere fie izolarea directa a germenului si identificarea acestuia (dg. *Bacteriologic*) , fie urmarirea raspunsului organismului la corpul microbian integral sau la fractiuni corpusculare sau solubile ale streptococului (dg. *Imunologic*) - BIOS nr. 4 / decembrie 1978 – Institutul Cantacuzino – cap. Diagnosticul de laborator al infectiilor produse de streptococci β - hemolitici pag. 46 .

Scopul diagnosticului bacteriologic consta in :

- precizarea exacta a etiologiei ;
- prevenirea complicatiilor prin depistarea precoce si tratarea corecta si la timp ;
- previziune clinica (tipuri nefritogene) ;
- previziune epidemiologica (tipuri epidemice si endemice) ;
- stabilirea filiatiei cazurilor ;

Pentru diagnosticul bacteriologic se va tine seama de urmatoarele :

- recoltarea exudatelor trebuie facuta dimineata inainte de masa sau la 3 – 4 ore dupa aceasta ;
- se va evita gargarismele facute cu diverse solutii antiseptice ;
- prelevarea sa se faca inainte de inceperea tratamentului cu antibiotice ;
- insamintarea tampoanelor trebuie facuta in cel mai scurt timp posibil de la recoltare ;
- daca tampoanele s-au uscat , este bine sa se umecteze cu cateva picaturi de *bulion* sau *solutie cloruro-sodica* , izotonica , inainte de insamantare ;
- probele recoltate in teren , care nu pot fi insamantate in timp util (2 – 3 ore) , se introduc in mediu de conservare si imbogatire infectiei -BIOS nr. 4 / decembrie 1978 – Institutul Cantacuzino – cap. Diagnosticul de laborator al infectiilor produse de streptococci β - hemolitici pag. 49 .

Frotiul direct : - in afara de hemocultura si exsudatele naso-faringiene pentru triajul epidemiologic , in rest toate produsele patologice trebuie examinate si *microscopic* . Se fac 2 frotiuri care se coloreaza Gram si albastru de metilen . In cazul exsudatului faringian , frotiul serveste numai pentru diagnostic diferential (eliminarea altor etiologii microbiene , micotica) .
Streptococii viridans – germeni comensali , prezenti in caile respiratorii superioare nu pot fi deosebiti microscopic de streptococii hemolitici (β si α') patogeni pentru om si animale , de asemenea enterococii in secretia vaginala (Bacteriologie medicala – vol II de V. Bilbie , N. Pozsgi - Ed. medicala 1985 pag. 82).

Metoda de insamintare - se poate face :

- directa
  - suprafata
  - profunzime → plăci turnate (incub.aeroba ;anaeroba 5% CO_2;
    - intre 2 straturi ;
- imbogatire in m. cu azotura de Na → placa cu geloza – sange .

Insamintarea in suprafata este metoda cea mai frecvent utilizata in toate laboratoarele. Mediul folosit in acest scop este *gelosa-sange* , turnata in placi Petri . In cazul tamponului faringian , acesta se descarca pe un sector de placa radiar , rasucind tamponul , pentru ca toate fetele lui sa vina in contact cu placa . Diseminarea se face fie cu o bagheta de sticla sterila , in forma de ''L''.

Placile se incubeaza timp de **18 – 24 ore** , aerob , la **37^0 C** . Deseori se poate obtine o dezvoltare mai bogata a streptococilor , daca se incubeaza *anaerob* , ceea ce are un efect favorabil asupra cresterii streptococilor si inhibitor asupra *stafilococului , asupra neisseriei , hemofilului , bacilului difteric* - BIOS nr. 4 / decembrie 1978 – Institutul Cantacuzino – cap. Diagnosticul de laborator al infectiilor produse de streptococi β - hemolitici pag. 50 .

Incubarea *anaeroba* , facultative insotita de incubarea in atmosfera cu CO_2 , este obligatorie pentru secretii vaginale , hemoculturi sau alte culturi isolate din cavitati inchise . Cand dorim inhibarea completa a stafilococului , folosim mediul *geloza-sange-cristal violet* 1/500.000.

Insamantarea *in profunzime* creaza conditii de semi-anaerobioza , ceea ce permite izolarea streptococilor *microaerofili* din diferite produse patologice si obtinerea unei hemolize nete.

Metoda *placilor turnate* este folosita indeosebi pentru insamantarea produselor lichide , provenite din cavitati inchise sau semiinchise . In fundul unei placi Petri sterile se pune o cantitate masurata (0,5 – 1 ml.) de produs ca atare sau diluat , peste care se toarna un strat de *geloza-sange* . Se amesteca si se lasa apoi sa se solidifice.

Metoda *intre doua straturi* se foloseste pentru insamantarea tampoanelor din cavitati inchise . Pe suprafata unei placi cu geloza se descarca si se disemineaza tamponul dupa tehnica descrisa . Se toarna deasupra un strat subtire de *geloza-sange* adusa la 48^0 C .

Insamantarea prin imbogatire se foloseste pentru :
- pentru produsele pauci-microbiene , cand vrem sa depistam un numar cat mai mare de purtatori de streptococci *hemolitici* dintr-o colectivitate ;
- ori de cate ori insamantarea nu se poate face in primele 2 ore de la recoltare (mediul respective avand si proprietati de conservare);
- pentru produsele intens contaminate cu alti germeni (calitati selective) ;
- pentru a da un rezultat mai rapid si cu specificarea *de grup* A , a tulpinii respective (24 ore) ;

Pentru aceasta , produsul recoltat se introduce in mediul de imbogatire , se lasa **5 – 6 ore** la **37^0**, dupa care se fac treceri pe *geloza-sange* , punand in zona descarcarii tamponului , bacitracina -BIOS nr. 4 / decembrie 1978 – Institutul Cantacuzino – cap. Diagnosticul de laborator al infectiilor produse de streptococi β - hemolitici pag. 50 .

Mediul de imbogatire (Pike) , este un mediu *de conservare , selectiv* si de *imbogatire* , ce contine *bullion cu azida de Na* si *cristal violet .*

Tehnica de lucru a tampoanelor recoltate pt. izolarea Str. pyogenes .

In tamponul recoltat se introduce mediul Pike cca. 2 ml. (mediul bulion cu azida de sodiu si cristal violet) si se pune la termostat timp de **5-18 ore**, la temperatura de 37 ^{0}C dupa care se disemineaza pe placa cu *geloza-sange* - BIOS nr. 4 / decembrie 1978 – Institutul Cantacuzino – cap. Diagnosticul de laborator al infectiilor produse de streptococci β - hemolitici pag. 52 sau pe mediul geloza-sange cu cristal violet (mediul I.C) .

Citirea placilor si notarea rezultatelor .

Dupa **18-24 ore** de incubatie , coloniile de streptococi β hemolitici sunt mici , transparente , translucide , cu un halou de hemoliza in jur . Hemoliza este clara , cu margini bine definite , cu diametru de 2 – 3 ori mai mare decat diametrul coloniei . Se deosebesc de stafilococii α-hemolitici prin marimea si aspectul coloniei .

Streptococul : colonie mica , transparenta sau translucida , hemoliza mare clara in jur , cu margini net delimitate .

Stafilococul : colonie mare , opaca , pigmentata , hemoliza mica .
Diferentierea de alti germeni hemolitici – *Haemophilus, Corynebacterium (speciile hemolitice)* sau *Escherichia coli* – este uneori mai dificila , fiind necesar deseori efectuarea unui frotiu colorat prin metoda Gram , pentru precizarea diagnosticului de specie .
Proportia *streptococolor hemolitici* prezenti se poate nota in raport cu restul florei :

- ± pana in 10 colonii pe placa ;
- ± + pana la 25 % colonii pe placa ;
- ± ++ intre 25 % si 50 % colonii pe placa ;
- ± +++ intre 50 % si 75 % colonii pe placa ;
- ± ++++ peste 75 % colonii pe placa .

Aprecierea numarului de colonii nu are valoare decât la *insamantarea directa* nu si dupa *imbogatire* . Ea depinde in mare masura de felul in care a fost recoltat exudatul , de timpul scurs pana la insamantare si de modul in care s-a facut insamantarea . Pana la stabilirea grupului serologic , rezultatul dat este provizoriu , bazat pe prezenta coloniilor β-hemolitice - BIOS nr. 4 / decembrie 1978 – Institutul Cantacuzino – cap. Diagnosticul de laborator al infectiilor produse de streptococci β - hemolitici pag. 53 .
Legat de structura antigenica si de virulenta , coloniile de streptococci patogeni se pot prezenta sub aspecte variate .

Se cunosc 4 feluri de colonii:

- ✓ Colonia ***mucoasa*** – rotunda , convexa , lucioasa filanta . Contine *substanta M* (substanta specifica de tip si factor de virulenta) si capsula . Se intalneste mai des la Streptococii de ***grup C*** , de origine animala . Reprezinta forma cea mai virulenta de streptococci .
- ✓ Colonia ***matt*** este mai intinsa in suprafata , rotunda sau ovalara , cu margini regulate , cu suprafata mamelonata , de conssistenta apoasa . Deseori conflueaza , dand

aspectul de harta geografica . Ca si colonia mucoasa contine *substanta M* si reprezinta forma virulenta a germenului .

- ✓ Colonia *glossy* este rotunda , mica , lucioasa , stralucitoare , conica .
- ✓ Colonia *rough* , uscata , cu margini neregulate , dintate , cu suprafata rugoasa . Se repica in totalitate ca o confeta , lasand pe locul coloniei o amprenta . Deseori , marginile se rasucesc ca o margine de frunza uscata .

Desi ultimele doua feluri de colonii corespund formelor mai putin virulente , lipsite de substanta M , ele se intalnesc ca atare la purtatori , dar si in cazuri de boala.

Identificarea grupului .

Exista numeroase metode de identificare a grupului de streptococci : biochimice , serologice , enzimatice , imunofluorescenta . Testul la *bacitracina* , completat cu metoda serologica constituie metoda de lucru cea mai indicata -BIOS nr. 4 / decembrie 1978 – Institutul Cantacuzino – cap. Diagnosticul de laborator al infectiilor produse de streptococci β - hemolitici pag. 54 .
Dupa 24 ore coloniile suspecte de pe mediul **geloza-sange,** cultura primară, se repica pe placa cu *geloza-sange* , trecand cu ansa un striu si apoi perpendicular striuri foarte dese iar in mijlocul ariei insamantate se pune un microcomprimat de ***bacitracina*** .
In ziua urmatoare se face citirea placii pentru controlul puritatii si pentru raspunsul la *bacitracina* . Prezenta unei zone *de inhibitie* cu un *diametru* **> 10 mm.** (in cazul pulberii) sau cu o raza **> 4 mm.** (in cazul rondelei sau microcomprimatului) arata ca tulpina izolata apartine grupului A . In *lipsa* completa a unei *zone de inhibitie* **,** este vorba de o tulpina care apartine altor grupuri decat A . In acest caz , precum si in cazul tulpinilor cu o *sensibilitate la limita* (**6 – 10 mm.** diametrul) , se va proceda la identificarea tulpinii prin metoda serologica .
Testul SXT – se face in paralel repicarea coloniei asemanator ca la testul *bacitracinei* pe mediul geloza-sange , la care se adauga microdiscul impregnat cu Sxt ce contine 1,25 mcg trimetoprim si 23,75 mcg. sulfametoxazol . Grupurile A si B sunt rezistente la SXT , iar grupurile C si G sunt sensibile (Bacteriologie medicala vol.2 . Autori V. Balbaie si N.Pozsgi Editura medicala 1985.- pag. 82).

Testul serologic se bazeaza pe o reactie de precipitare intre *antigenul streptococic* extras din tulpina respectiva (substanta specifica de grup – *polizaharid* pentru majoritatea grupurilor) si *serurilor antispecifice de grup* - BIOS nr. 4 / decembrie 1978 – Institutul Cantacuzino – cap. Diagnosticul de laborator al infectiilor produse de streptococci β - hemolitici pag. 53 .

Tehnicile de identificare propriu-zisa a grupelor serologice se poate efectueaza cu una din trusele urmatoare :

-***Streptex***
-***Streptocard***
-Pasteurex

Identificarea streptococilor β hemolitici grup B.

Streptococii grup B fac parte din flora comensala a omului si animalelor ,(*Steptococcus agalactiae*), fiind izolat cu frecventa variata din vagin , rect , uretra , faringele adultului sanatos si de pe suprafete cutanate (ombilic) , faringe , conduct auricular al nou nascutilor contaminati de la mame in timpul travaliului – 1 % din nou nascutii contaminati pot dezvolta infectii foarte severe , cu mortalitate de 60 – 70 % . Cunoscut patogen pentru animale (agentul etiologic al mastitei bovideelor) , a devenit tot mai frecvent implicat in infectii umane de severitate deosebita . Afecteaza cu deosebire nou nascutul si femeia gravida , prematuritatea , colonizarea gravidei si imunodeficienta umorala a mamei fiind factori favorizanti (Bacteriologie medicala – vol II de V. Bilbie , N. Pozsgi - Ed. medicala 1985 pag. 73).

Infectiile umane cu streptococi grup B imbraca la copii doua aspecte bine individualizate :
- *Forma precoce septicemica* care se instaleaza in primele ore .. 2-3 zile de la nastere cu tulburari respiratorii grave , greu de diferentiat de boala cu membrane hialine . Are evolutie fudroianta fatala in 60 – 70 % din cazuri . Infectarea se face in timpul travaliului de la mama purtatoare in secretia vaginala .
- *Forma tardiva meningitica* ce apare intre a 10 – 90 a zi de la nastere , cu mortalitate mare (20 % in medie) , sau cu frecvente sechele neurologice . Infectarea se face prin transmitere ***nosocomiala*** de la *purtatorii faringieni* Se datoreste frecvent *tipului III*. Alte forme tardive de infectie la copii mai pot fi : otita medie , pneumonia , abces pulmonar , artrita septica , osteomielita , mielita , encefalita , celulita , conjuctivita , etmoidita . La adult infectia se manifesta sub forma de avort , septicemie postpartum si postabortum , infectii ale tractului urinar , mai rar formele infectiei tardive la copii (Bacteriologie medicala – vol II de V. Bilbie , N. Pozsgi - Ed. medicala 1985 pag. 73).

Identificarea streptococilor de grup B in *exudatul faringian* se efectueaza astfel :
- se insamanteaza direct pe placa cu *geloza-sange* , sau dupa o prealabila trecere in *bulion azid de sodiu* (mediu de conservare , selectiv si de imbogatire) .
Streptococii de grup B se dezvolta pe placa de *geloza-sange* sub forma de colonii mici , transparente , cu hemoliza α' (henoliza β incompleta) sau hemoliza α .

Microscopic pe frotiul colorat Gram , apar streptococi in lanturi , Gram pozitivi . Coloniile cu aspect caracteristic se repica in bulion glucozat 2 ‰ , se incubeaza **24 ore** la **37^{0}C** . Din aceasta cultura se efectueaza identificarea biochimica si serologica si sensibilitatea la antibiotice BIOS nr. 4 / decembrie 1978 – Institutul Cantacuzino – cap. Diagnosticul de laborator al infectiilor produse de streptococci β - hemolitici pag. 83. Identificarea serologica se face conform Instructiunilor din trusele serologice de la ANEXA nr. 8 , 9 si 10 , iar identificarea speciei cu ajutorul trusei API Strep – BioMérieux , conform instructiunilor din ANEXA nr. 2.

Identificarea streptococilor β hemolitici grup C.

Considerat initial ca nefiind patogen pentru om , in prezent incidenta lor a crescut fiind izolati atat din exsudatul faringian al purtatorilor sanatosi cat si in *infectii umane* .Cuprinde 4 specii : *Streptococcus equisimilis* (om) , *S. equi , S. zooepidemicus* si *S. dysgalactiae* (animale) .*Streptococcus equisimilis* este izolat din forme usoare de boala (angine , faringite) , in timp ce *S. zooepidemicus* foarte patogen pentru animale poate fi izolat de asemenea si din forme

severe de imbolnaviri umane (septicemii , meningite , angine complicate cu limfadenite si GNA) (Bacteriologie medicala – vol II de V. Bilbie, N.Pozsgi - Ed. medicala 1985 pag.74-75).

Identificarea streptococilor de grup C in *exudatul faringian* se efectueaza la fel ca si la grupul A si B iar identificarea serologica se face conform Instructiunilor din trusele serologice de la ANEXA nr. 8 , 9 si 10

Identificarea streptococilor β hemolitici grup G.

Inregistreaza o evolutie similara cu a streptococilor grup C in infectiile umane (Bacteriologie medicala – vol II de V. Bilbie , N. Pozsgi - Ed. medicala 1985 pag. 76). Streptococii grup G ca si cei de grup C pot interveni in etiologia unor *angine* si se pot complica in unele cazuri cu *glomerulonefrita acuta .*

Streptococii de grup C si G sunt insa mai putin sensibili la *penicilina* decat streptococii de grup A (Buletinul M.S. nr.4 / 1978 – Ordinul M.S. nr. 181 din 13 aprilie 1978 pentru stabilirea actiunilor precum si a atributilor unitatilor sanitare in prevenirea si combaterea infectiilor streptococice – pag 8).

Identificarea streptococilor de grup G in *exudatul faringian* se efectueaza la fel ca si la grupul A si B.

Identificarea streptococilor hemolitici grup D.

Sunt germeni comensali in tractul digestiv al omului si animalelor si conditionat patogeni , la om fiind izolati din cazuri de meningite , endocardite , infectii urinare (Bacteriologie medicala – vol II de V. Bilbie , N. Pozsgi - Ed. medicala 1985 pag. 76).

Conceptia actuala asupra taxonomiei streptococilor de grup D se bazeaza pe urmatoarele caracteristici comune intregului grup :

- antigenul specific de grup (acid glicerol teichoic);
- abilitatea de a creste la 45 ^{0}C ;
- abilitatea de a se dezvolta in medii cu 40 % (bila) ;
- rezistenta la ***oxacilina*** (la care ceilalti streptococi , pneumococi si stafilococi sunt sensibili).

Din punct de vedere taxonomic sunt foarte heterogeni , din componenta lor facand parte urmatoarele specii si variante

- Tabelul nr. 3

SPECIA	VARIANTA	
Streptococcus faecalis		Enterococi
Streptococcus faecalis	varianta zymogenes	
Streptococcus faecalis	varianta liquefaciens	
Streptococcus faecium	varianta durans	
Streptococcus bovis		

Streptococcus bovis	Varianta	
Streptococcus equinus		
Streptococcus avium		

(Bacteriologie medicala – vol. II de V. Bilbie , N. Pozsgi - Ed. medicala 1985 pag. 76-77).

Recoltarea exudatului faringian se face de pe amigdale si peretele posterior al faringelui cu ajutorul unor tampoane sterile . Acestea se umecteaza cu cateva picaturi de bulion si se insamanteaza pe medii adecvate .

Insamantarea produselor patologicel (urina , puroi , secretii vaginale , materii fecale , sange , exudat faringian) , precum si probe de apa si alimente , se insamanteaza pe placi cu *geloza-sange* ***de cal*** sau ***berbec*** **8 – 10 %** si pe placi cu medii selective continand : *telurit de K ,* sau *TTC* – pentru specia de *streptococ faecalis*, *mediul cu bila 40** pentru intreg grupul de streptococi grup D . Insamantarea se face prin descarcarea apoi prin diseminarea cu ansa pe restul placii pentru obtinerea de colonii izolate .

Placile se incubeaza **24 ore** la **37 ^{0} C** . Izolarea unor colonii mici , transparente cu hemoliza *viridans* pe medii cu *geloza-sange* din probele respective , este suspecta de izolarea unor tulpini de streptococi grup D . Exudatul faringian se considera pozitiv pentru *streptococul de grup D* , numai in cazul in care prezenta coloniilor *viridans* de pe placa cu geloza sange este insotita si de prezenta cresterii pe *medii selective* .

Streptococul de grup D (specia *faecalis*) , produce pe mediile cu TTC , colonii mici , transparente cu culoare *roz-rosie* , pe mediile cu *telurit de K* , **mici , negre -** BIOS nr. 4 / decembrie 1978 – Institutul Cantacuzino – cap. Diagnosticul de laborator al infectiilor produse de streptococci β - hemolitici pag. 89-90 .

Identificarea serologica se face conform Instructiunilor din trusele serologice de la ANEXA nr. 8

Identificarea Streptococului pneumonie in exsudate.

Streptococcus pneumoniae (pneumococul) este un germene conditionat patogen , având ca habitat tractul respirator superior la om si animale , determinand in conditiile scaderii rezistentei organismului , mai ales la copii si batrani , imbolnaviri severe : pneumonia lobara , bronhopneumonia , meningita , otita medie , etc. (Bacteriologie medicala – vol. II de V. Bilbie , N. Pozsgi - Ed. medicala 1985 pag. 76).
Pneumococii si unele tulpini de streptococi viridans sunt carboxifili . De aceea izolarea lor , ca si a streptococilor din cavitati inchise ori semiinchise , este favorizata in atmosfera cu 5 % CO_2

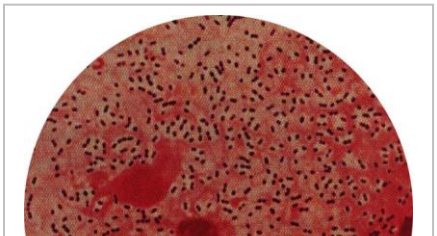
Pe ***medii agarizate*** si ***suplimentate*** cu **5 % *sange de berbec*** sau de ***cal*** , aspectul coloniilor de streptococi variaza cu specia si mediul de baza utilizat. Coloniile *pneumococilor* apar *gri-opace* , au cca. *1 mm diametru* , sunt *α- hemolitice* , asemanatoare cand sunt tinere cu cele ale *streptococilor viridans* . Dupa incubare in atmosfera cu 5 % CO_2 , zona de *α - hemoliza* este mai larga . Progresiv , uneori in cateva ore , coloniile pneumococilor devin crateriforme datorita autolizei enzimatice > Coloniile tulpinilor care formeaza mai mult *polizaharid capsular* sunt mai mari .
Tulpinile virulente (mai frecvent *serovar 3* , dar si ale altor serovaruri) formeaza colonii *transparente , **mucoide*** , la care autoliza este mai rapida , si frecvent completa , incat pe suprafata mediului ramane numai urma coloniilor .
Identifiarea prezumtiva a streptococilor **non β – hemolitici** este redata in tabelul urmator :

Tabelul nr.4

Tipul sau specia de streptococci	Sensibilitatea la **optochin**	**Biloliza**	**Bila-esculina**	**CAMP**
Str. pneumoniae	**S** [b]	**+** [c]	**--**	**--**
Str. bovis	**R**	**--**	**+**	**--**
Str. agalactiae	**R**	**--**	**--**	**+**
Viridans	**R**	**--**	**-- d**	**--**

b = la un numar redus de tulpini rezultatul poate fi neconcludent ;
c = tulpini necapsulate pot fi rezistente ;
d = exceptii ocazionale ;
S = sensibil ;
R = rezistent ;
\+ = test pozitiv ;
■ = test negativ ;

absenta unui simbol = test nesemnificativ . (cf Tratat de microbiologie clinica . Autori: Dumitru Buiuc si Marian Negut . Editura Medicala Bucuresti 1999 pag. 618 ,619) .



Imagine microscop – Streptococcus pneumoniae

Elaborarea α - hemolizinei .

Se observa producerea unei zone verzui de hemoliza incompleta in jurul coloniei pe mediul *geloza-sange* (Manual de laborator clinic – Alteras I. si Cajal N. – Editura Medicala Bucuresti 1966 – pag. 728) .

Testul de sensibilitate la OPTOCHIN .

Indicatii : - este testul de diferentiere prezumtiva a *Str. pneumoniae* de *streptococii viridans .*

Principiu : - majoritatea pneumococilor sunt sensibili la *optochin* , in timp ce streptococii viridans sunt rezistenti . Specificitatea testului este de *peste 90 %* .

Proba ; colonii tinere izolate pe agar-sange .

Necesar : - placi cu agar-sange ;

- discuri de 6 mm. diametru cu **5 μg optochin** (*etilenhidrocupreina*) . *Procedura* : insamanteaza in striuri dense , suprapuse in trei directii , pe cate un cadran al placii cu *agar-sange* 2-3 colonii din cultura prelevatelor monocrobiene sau o singura colonie α-hemolitica din cea a prelevatelor polimicrobiene (e.g. sputa) . Depune un disc cu *optochin* in centrul fiecarei arii insamantate . Incubeaza peste noapte la **37^0 C** in atmosfera cu **5 % CO_2 .**

Citire si interpretare :

Test pozitiv (sensibilitate) - zona de *inhibitie a cresterii* ≥ **14 mm**.

Test negativ : (rezistenta) – absenta inhibitia cresterii .

Cand zona de inhibitie este < **14 mm**, efectueaza si testul **bilolizei**

(cf .Tratat de microbiologie clinica . Autori: Dumitru Buiuc si Marian Negut . Editura Medicala Bucuresti 1999 pag. 1116) .

Identificarea Staphylococului patogen in exsudate .

Stafilococii sunt bacterii patogene si conditionat patogene fiind agenti etiologici in proportie de **80 %** ai infectiilor supurative intalnite in practica medicala . Datorita tropismului marcat pentru tesutul dermic , stafilococii patogeni provoaca mai ales infectii la nivelul tegumentelor si anexelor pielii , dar ei pot invada orice alt tesut si organ , inclusiv naz0-faringele si cavitatile adiacente provocand *angine , faringite , sinuzite , otita supurata , mastoidita* . Genul Staphylococcus cuprinde coci Gram + , dispusi in gramezi neregulate, *catalaza pozitiv*, facultative anaerobi . (Bacteriologie medicala – vol II de V. Bilbie , N. Pozsgi - Ed. medicala 1985 pag.17).

Caracteristicile diferentiale ale celor 3 specii ale genului Staphylococcus (dupa Baird-Parker) se observa in tabelul nr. 5

Tabelul nr. 5

	Staphylococus aureus	Staphylococcus epidermidis	Staphylococus saprophiticus
Prezenta coagulazei	**+**	**--**	**--**
Fermentare manitol *aeroba* cu producere de acid *anaeroba* cu produc. de acid	**+** **+**	± **--**	± **--**
Fermentarea glucozei	**+**	**+**	**--**
Producerea de alfa- toxina	**+**	**--**	**--**
Producere de endonucleaze termorezistente	**+**	**--**	**--**
Biotina ca factor de crestere	**+**	**--**	**+**
Compoz. perete celular RIBITOL	**+**	**--**	**+**
GLICEROL	**--**	**+**	±
Proteina A	**+**	**--**	**--**
Sensibilitate la NOVOBIOCINA	**S**	**S**	**R**

± **= variabi ; S = sensibil ; R = rezistent**

(Bacteriologie medicala – vol II de V. Bilbie , N. Pozsgi - Ed. medicala 1985 pag.17).

SCHEMA MINIMA DE IDENTIFICARE A PRINCIPALELOR SPECII DE STAFILOCOCI .

	TESTUL	REZULTAT	SEMNIFICATIE
FAMILIA	**Catalaza**	**+** **--**	***Micrococacceae*** ***Streptococacceae***
GENUL	**Nitrofurantoin 300 μg / disc**	**≥ 16 mm.** **≤ 10 mm.**	***Staphylococcus*** ***Micrococcus***
SPECIA	**Coagulaza, termonucleaza, proteina_A pigment**	+ --	***Staphylococcus aureus*** ***Staph. coagulaza --***

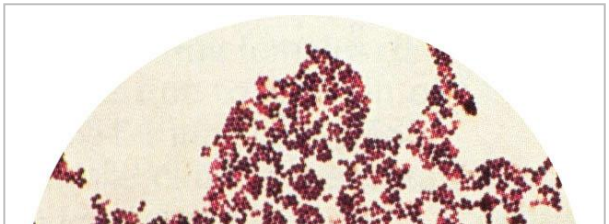
	Novobiocina 5 μg / disc	**≤ 10 mm.**	**≥ 16 mm.**	
	Acidifierea trehalozei	**+**	**--**	**+**
	Acidifierea manitolului	**--**	**--**	**+ (--)**
		Staphylococcus saprophyticus	*Staphylococcus epidermidis.*	*Staphyl hemolitic*
1. Tulpinile negative pt. coagulaza pe lama se vor testa pentru coagulaza libera . **2. Producerea de pigment si hemolizine este mai frecventa la *S. aureus* dar constituie un criteriu major .** **3. Pot fi pozitive pentru coagulaza pe lama si *Staph. lugdunensis* si *Staph. schleiferi* .**				

TESTUL	Staph. aureus	Staph. lugdunensis	Staph. schleiferi
Coagulaza libera	**+**	**--**	**--**
Acidifiere manitol	**+**	**--**	**--**
Termonucleaza	**+**	**+**	**--**

Se diferentiaza de *S. warneri* si *S. simulans* prin aspectul coloniilor Φ > 1 mm. La 24 ore si prezenta unei usoare hemolize .

Diagnosticul etiolgic .

Stabilirea etiologiei infectiei stafilococice se practica la **bolnavul infectat** şi **purtatorul sanatos** . Insamantarea produselor biologice moderat contaminate (sputa , tesuturi) poate fi facuta pe medii uzuale ca bulionul si *geloza nutritiva* , dar se prefera *geloza-sange* de *oaie* pe care se insamanteaza prin descarcarea ansei pentru a obtine colonii izolate . Sangele uman nu este recomandat pentru a fi utilizat , deoarece contine ihibitori nespecifici si eventual anticorpi *antistafilococici* care pot stanjeni izolarea . Dupa termostatarea de **18 – 20 ore** la **37^0 C** coloniile de stafilococ se dezvolta abundent si caracteristic pe geloza-sange . Diametrul coloniilor este de 1 – 3 mm , aspectul de colonii tip S , bombate , lucioase , opace , cu marginile regulate , de consistenta cremoasa , de culoare galben-aurie . Coloniile ce se dezvolta pe mediul cu sange pot fi inconjurate de o zona circulara de *hemoliza completa* . Verificarea culturii pure se poate face prin efectuarea unui frotiu dintr-o colonie izolata , care se coloreaza Gram si se examineaza la microscop cu obiectivul de imersie . Prezenta cocilor sferici , egali , asezati in gramezi , Gram + , ne confirma cultura pura . Din aceasta colonie se fac subculturi pe bulion *nutritiv glucozat* si *geloza inclinata* , in vederea identificarii si diagnosticului diferential .



Imagine microscopică – coci Gram + ,dispuşi în "staphylos"

In cazul produselor patologice cu *bogata flora de asociatie* se poate folosi simultan cu geloza-sange de oaie si un mediu selectiv pentru izolare precum *geloza hiperclorurata* cu *manitol* , mediul *Chapmann*. (Bacteriologie medicala – vol II de V. Bilbie , N. Pozsgi - Ed. medicala 1985 pag. 36-37).

Etapa urmatoare reprezinta identificarea si diagnosticul diferential cu specii inrudite . In vederea identificarii se fac din cultura pura de **18 – 20 ore** in *bulion-glucozat* urmatoarele subculturi : a) – pe *agar – sange* de *oaie* pentru controlul hemolizei . Majoritatea tulpinilor de Staph. aureus sunt hemolitice . Exista unele tulpini de S. aureus care nu formeaza hemoliza iar unele tulpini de S. epidermidis pot prezenta o zona discreta de hemoliza . La unele tulpini de S. aureus cu asociatie de hemolizine alfa-delta , hemoliza este preponderent reprezentata de hemolizina delta . Hemoliza totala de tip beta este data de alfa hemolizina Zona de hemoliza la **37^0 C** data de beta hemolizina poate fi discreta si atunci apare necesara mentinerea 20 – 24 ore la **+ 4^0 C** .

b) – in tuburi cu *bulion* + *manitol* si indicator de pH . Fermentarea manitolului este o caracteristica relativ constanta a S. aureus . Specia S. epidermidis **nu** fermenteaza manitolul. Unele tulpini de S. aureus fermenteaza lent manitolul de aceea este util ca citirea finala a testului sa se efectueze dupa **48 ore** .

c) - pe mediul *selectiv hiperclorurat Chapmann* prin descarcarea ansei pentru a obtine colonii izolate . Citirea se face dupa **24 – 48 ore** de termostatare . S. aureus se dezvolta bine si produc virajul de culoare al indicatorului de pH ce indica fermentarea manitolului . S. epidermidis creste greu sau este inhibat de mediul selectiv si nu fermenteaza manitolul , iar stafilococii saprofiti din mediul ambiant nu tolereaza concentratia crescuta de NaCl din compozitia mediului si nu se dezvolta

Unele tulpini saprofite de stafilococ pot fermenta manitolul .

d) - *testul evidentierii coagulazei* . Marea majoritate a tulpinilor de stafilococ patogen elaboreaza enzima *coagulaza* , activa asupra plasmei umane si de iepure . In practica medicala se folosesc doua tehnici de evidentiere a coagulazei stafilococice : una pune in evidenta *coagulaza legata* sau *'' Clumping factor ''* printr-o tehnica simpla pe lama , iar cea de-a doua evidentiaza *coagulaza libera ,*difuzabila , printr-o tehnica in tuburi . Plasma se obtine prin amestecarea a **1,3 ml.** sange *uman* sau de *iepure* cu **0,7 ml.** dintr-o solutie cu 3,8 % de citrat de sodiu. **Testul pe lama** se bazeaza pe depunerea cu ansa bacteriologica a unei picaturi de plasma pe lama , apoi se incarca ansa cu cultura de **18-20 ore** de pe geloza inclinata si se amesteca in picatura cuplasma . Actiunea coagulazei se manifesta rapid prin aparitia de mici coaguli care se ingramadesc datorita precipitarii fibrinogenului plasmatic in fibrina sub actiunea enzimei . Un martor cu apa fiziologica si cultura se face alaturat pe aceeasi lama . Tehnica este fiabila daca se executa cu acuratete , lama trebuie sa fie noua , bine spalata si degresata . **Tehnica in tuburi** . Se folosesc 3 tuburi tip hemoliza curate , sterile in care se introduc cate **0,5 ml.** din plasma citratata de iepure diluata **1 : 5 ….. 1 : 10 .** In primul tub se adauga **0,5 ml.** din cultura de stafilococ de cercetat de **18-20 ore** in *bulion* . In cel de-al doilea tub se adauga **0,5 ml.** bulion , iar in cel de-al treilea tub o tulpina de stafilococ *sigur pozitiva* . Cele trei tuburi se incubeaza la **37^0 C** intr-o baie de apa . Citirea se face la interval de **30 minute , 1 ora , 2 ore , 3 ore** si **24 ore ,** pentru a stabili aparitia coagularii . Testul se considera pozitiv atunci cand apare un coagul care pluteste in amestec sau se citeste prin inclinarea tubului si observatia cu ochiul liber . O coagulare care se manifesta tardiv , la **24 ore** este discutabila si testul trebuie refacut dupa verificarea prealabila a puritatii culturii . Tulpinile patogene de stafilococ elaboreaza coagulaza in proportie de **97 %** , acest test fiind considerat de mare fiabilitate . Totusi exista tulpini de stafilococ *coagulazo-negative* care prezinta alti factori de patogenitate cu exceptia coagulazei .In ultimii ani s-au acumulat critici la adresa valorii testului pe lama de evidentiere a coagulazei si se recomanda folosirea lui doar ca metoda screening la un numar mare de tulpini de stafilococ , fiind obligatorie confirmarea testelor negative pe lama prin testul *in tuburi* . De asemenea se considera ca utilizarea plasmei de iepure liofilizate scade sensibilitatea metodei si se recomanda folosirea de plasma *umana citratata proaspata* (Bacteriologie medicala – vol II de V. Bilbie , N. Pozsgi - Ed. medicala 1985 pag.37-38).

Alte tehnici de evidentierea coagulazei cu ajutorul unor truse specifice de tip *Staphi Plus* sau *Staph AUREX* sunt traduse **in Anexa nr. 6 si 7** .

e.) *Testul evidentierii catalazei* serveste la diagnosticul diferential cu alte specii de coci patogeni in special cu *streptococii* si *pneumococii* care **nu poseda catalaza** . Acest test se poate executa prin tehnica rapida pe lama pe care se depune o picatura dintr-o solutie **30 %** de *peroxid de hidrogen* , apoi se preleveaza o ansa bine incarcata din cultura de testat pe *geloza inclinata* si se amesteca in picatura de peroxid . Aparitia imediata a bulelor de gaz indica prezenta *catalazei* . <u>*Este contraindicata prelevarea coloniilor de pe geloza-sange , deoarece hematiile poseda catalaza si falsifica reactia*</u> Utila este folosirea unei tulpini de *enterococ* si a unei tulpini de stafilococ auriu ca martori negativi si pozitivi ai reactiei , paralel cu tulpina de testat (Bacteriologie medicala – vol II de V. Bilbie , N. Pozsgi - Ed. medicala 1985 pag.38).

Identificarea Candida albicans in exsudate .

Prezenta de levuri gen Candida in cantitate mare , daca aceasta corespunde cu leziuni clinic vizibile la copii mici , batrani , la bolnavi cu stare generala alterata la diabetici , uremici , imunodeprimati dar mai ales la persoanele care au primit antibiotice cu spectru larg , poaqate fi luata in considerare in diagnosticul etiologic al unei boli (Laboratorul clinic in infectii – Matei Bals Editura Medicala Bucuresti 1982 – pag 157)
Insamantarea probelor se face pe mediul Sabouraud solid fie in placi Petri fie turnat inclinat in tuburi . Incubarea se face la 37^0 C timp de 48 – 72 ore . Din coloniile suspecte se efectueaza frotiuri in ser fiziologic colorate cu albastru metilen sau Gram .

Candida se evidentiaza in produsele patologice sub forma unor levuri rotunde sau ovalare , mari de 2 – 4 µm intens Gram + , uneori insotite de fragmente pseudomiceliene de asemenea Gram + . In culturi apar pseudomicelii , blastospori si chlamidospori , cu peretii grosi .

O metoda rapida de identificare a *Candidei albicans* se bazeaza pe germinarea rapida a levurilor , care emit filamente in prezenta serului uman sau animal . Se introduc cateva picaturi dintr-o suspensie de Candida intr-o eprubeta ce contine **0,5 ml. ser uman** . Se agita , se tine apoi la termostat timp de **4 ore** la temperatura de **37^0 C** , dupa care se examineaza o picatura la microscop.

Daca celulele de *Candida* incep sa emita filamente , este vorba de *Candida albicans* (Elemente de dermatomicologie - Editura medicala Bucuresti 1979 – pag. 18) Pentru determinarea si a altor specii din genul Candida se efectueaza testul Auxacolor trusa BIO RAD conform instructiunilor din Anexa nr. 1

Identificarea Pseudomonas aeruginosa in exudate
Genul Pseudomonas face parte din familia Pseudomonadaceae , cuprinde peste 250 de specii din care un numar redus prezinta interes medical .Pseudomonas aeruginosa , specia tip a genului Pseudomonas , este cel mai frecvent intalnit in patologia umana actuala , producand infectii grave , in special , la indivizii cu deficit imunitar . Este principala bacterie conditionat patogena care determina 5 – 15 % din totalul *infectiilor nosocomiale .Pseudomonas aeuginosa* poate determina o mare diversitate de forme clinice , in functie de caracterele de virulenta ale germenului si de posibilitatile de aparare ale organismelor gazda : *infectii urinare , meningite , infectii digestive , otite , oto-mastoidite* (frecvente in sectiile de imaturi) , *sinuzite , faringite* ce se intalnesc la adulti , *infectiile aparatului respirator* (abces pulmonar , bronsita , pneumonii , bronhopneumonii , pleurezii – ce pot fi localizari pleuro-pulmonare autonome , sau pot reprezenta infectii consecutive instrumentarilor gresite precum bronhoscopii , intubatii , spalaturi bronsice , pneumotorax etc. Alte infectii produse de b. piocianic pot fi : *infectii ale aparatului locomotor , infectii oculare , ale aparatului locomotor , colicistite , paronichia* (infectia unghiilor) semnalandu-se din ce in ce mai frecvent *izbucniri epidemice* in special in mediul spitalicesc in serviciile de traumatologie , reanimare , arsuri , diabetici , geriatrie , pediatrie etc.
a.) *Izolarea Ps. aeruginosa de la bolnavul sau suspectul de infectie cu Ps. aeruginosa* se face prin insamantarea directa a produsului patologic pe mediul *geloza-sange si/ sau geloza inclinata .* Insamantarea in *bulion* sau *apa peptonata 1 %* se recomanda pentru decelarea Ps. aeruginosa in produsele biologice **paucibacilare** mai ales cand recoltarea s-a facut in timpul sau **dupa tratamentul** cu agenti antimicrobieni .

Incubarea mediilor insamantate in acest caz ese de 48 – 72 ore . In general dupa 24 ore de incubare la **37^0 C** se examineaza cresterea culturilor bacteriene .
b.) *Izolarea Ps. aeruginosa de la purtatori , contacti de focar* se face prin insamantarea **exsudatelor faringiene** pe mediul *Geloza- sange şi/* sau *apa peptonata + 1 % TTC*) timp de *24 – 48 ore* .

Identificarea Ps. aeruginosa
a.) – in cazul in care pe mediul geloză simplă se dezvolta colonii mici , aderente de mediu , pe geloza-sange apar colonii gri , hemolitice , cu miros aromat (floare de tei) , *citocrom-oxidaza* + , de pe cultura pe *geloza-inclinata* , iar din cultura in *bulion* sau *apa peptonata* se extrage piocianina si se remarca o pelicula *alb-gri* la suprafata *bulionului ,* diagnosticul *de Pseudomonas aeruginosa* este confirmat .
b.) – in cazul in care apar pe celelalte medii colonii suspecte , acestea se repica in apa peptonata 1 % , *geloza inclinata* 2 % (pentru dezvoltare la 4^0 C si 42^0 C) , pe ser coagulat de bou , sau pe medii zaharate cu glucoza , lactoza , maltoza si zaharoza (OF – *Hugh* si *Leifson*) , mediul *geloza* dreapta **0,3 %** (pentru mobilitate) si se efectueaza un frotiu colorat gram .
c.) – daca placile si tuburile cu medii insamantate sunt sterile dupa **24 ore** de incubare la **37^0 C** , se reitroduc in incubator si se examineaza dupa **alte 24 ore** in acelasi mod .
d.) – in cazul tulpinilor *acromogene* de *Pseudomonas aeruginosa* , urmatoarele caracteristici sunt suficiente pentru identificare :
- bacili Gram, nesporulati , bacili drepti sau usor incurbati ;
- mobilitate + ;
- oxidarea glucoze + ;
- oxidarea maltozei -- ;
- citocromoxidaza + ;
- catalaza + ;
- lizina , H_2S , ureaza -;
- dezvoltarea la **42 ^{0} C** + ;
- dezvoltarea la **+ 4^0 C --** ;
- pigmenti, rosu metil , acetylmethylcarbinol - ;
- nitriti din nitrati + .

e.) – tulpinile de *Pseudomonas aeruginosa* izolate de la bolnavi se cerceteaza obligatoriu si din punct de vedere al sensibilitatii la *antibiotice* si *chimiterapice* . Identitatea tulpinilor de *Ps. Aeruginosa* izolate din infectii de spital , mediu spitalicesc si purtatori se realizeaza prin *lizotipie , serotipie* si *piocinotipie* , utilizate singure sau in asociatie (Bacteriologie medicala – vol II de V.Bilbie , N. Pozsgi - Ed. medicala 1985 pag. 430 , 431).

7.2. Diagnosticul bacteriologic a infecţiilor otice.

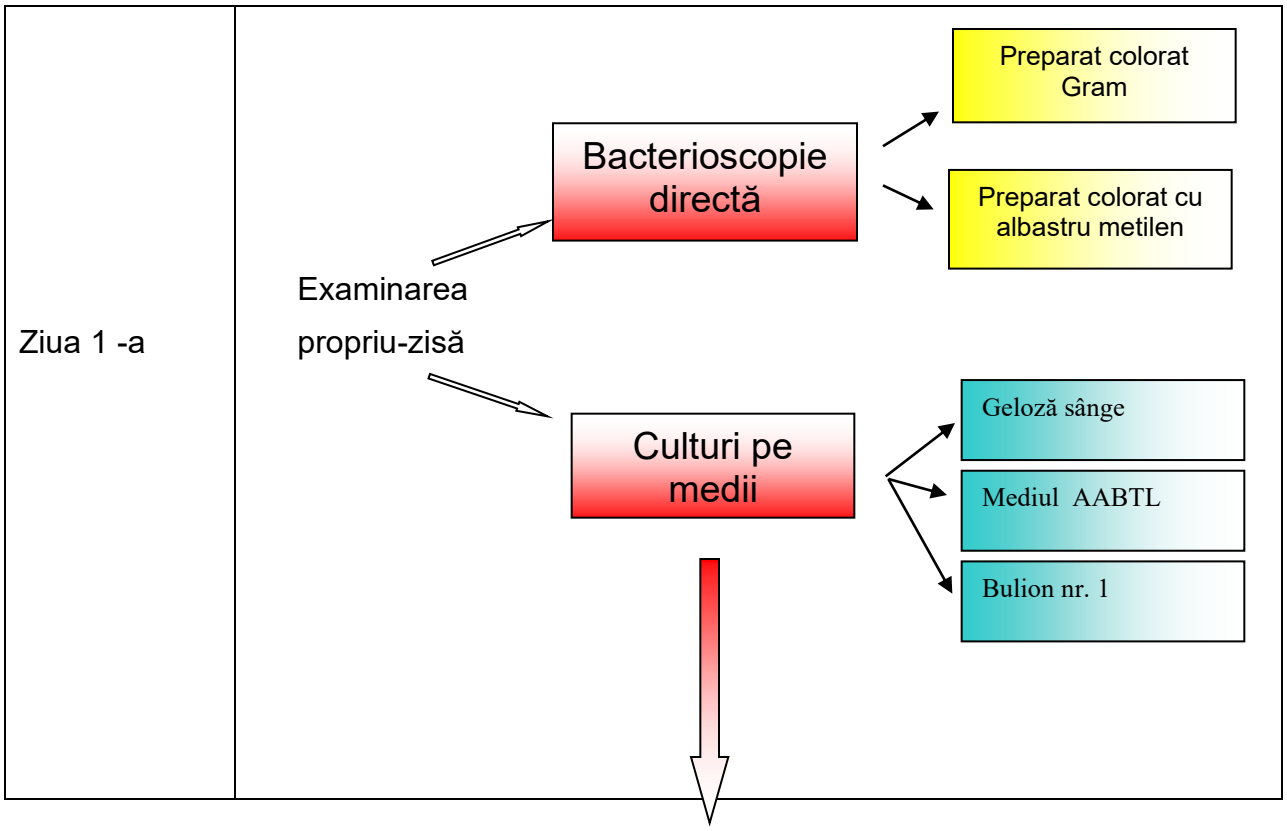
Patologia infecţioasă a urechii este dominată de infecţiile pavilionului, ale conductului auditiv extern şi ale urechii medii.
Flora bacteriană normală a pavilionului şi a conductului auditiv extern este reprezentată de bacteriile, care se întîlnesc pe piele şi în primul rând de Staphylococcus (epidermitis şi aureus) şi Corynebacterii nepatogene; la aceasta se adaugă bacilii gram negativi — Proteus, E. coli şi

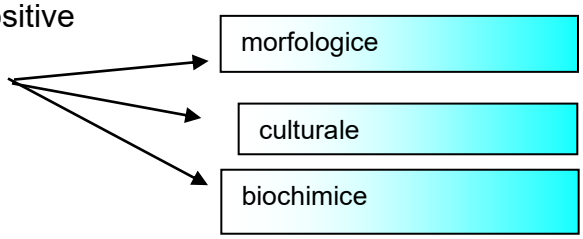
Pseudomonas aeruginosa — germeni care au fost găsiţi mai frecvent în această regiune decât în alte părţi şi foarte rar Streptococcus pneumoniae.

Urechea medie şi internă constituie regiuni sterile, din punct de vedere bacteriologic, dar se pot infecta, fie în cazul unor boli generale, fie prin invazia florei locale şi de vecinătate.

Insămînţarea se face pe medii *geloză-sîn*ge, *geloză AABTL* şi într-un *tub cu bulion nr. 1*. Din materialul rămas, se pot face frotiuri colorate cu Gram şi albastru de metilen.
Culturile dezvoltate se examinează din punct de vedere al aspectului şi prin frotiuri şi în caz necesar se efectuează teste biochimice.
Este foarte importantă efectuarea antibiogramei, în special pentru stafilococi şi bacili gramnegativi, care sunt cauza celor mai frecvente insuccese terapeutice.

Schema diagnosticului bacteriologic a secreţiilor otice



Ziua a 2- a	- In cazul culturilor positive se face identificarea pe baza caracterelor  - Efectuarea antibiogramei (în special pt. stafilococi şi bacilli gram negativ

Metode de laborator vol.2 Ministerul Sanatatii Editura Medicala Bucuresti 1977– pag.92

Interpretarea rezultatelor se face prin confruntarea datelor obţinute prin bacterioscopie şi prin culturi; aceasta din urmă este cu mult mai utilă în acest caz decît frotiul, întrucât permite separarea germenilor patogeni sau condiţionat patogeni de flora bacteriană normală a conductului auditiv extern.

Bolile urechii externe sunt asemănătoare cu cele ale pielii (furuncule, eczeme etc.) din care se izolează în mod predilect Staphylococcus aureus şi Pseudomonas; foarte rar mai pot fi identificaţi bacili gram pozitivi ca Actinomyces şi diferite Mycobacterii.
In etiologia otitei medii acute, se întîlnesc în ordinea frecvenţei: stafilococi coagulazopozitivi, Streptococcus pneumoniae, Streptococcus pyogenes, Pseudomonas aeruginosa, Haemophilus, şi alţi germeni.
La copii şi nou-născuţi, cel mai frecvent se izolează: E. coli, Klebsiella, Staphylococcus şi Pseudomonas — de multe ori în cadrul unor infecţii generalizate.

7. 3. Diagnosticul bacteriologic a infecţiilor oculare.

Examenul bacteriologic constă din frotiuri şi culturi.
Examenul mlcroscopic al frotiurilor colorate cu Gram şi cu albastru de metilen orientează asupra prezenţei celulelor epiteliale de descuamare, a leucocitelor (polinucleare sau limfocite), a numărului şi felului de germeni. Prezenţa de leucocite polinucleare constituie o indicaţie majoră pentru o infecţie bacteriană.
Efecfuarea culturilor se face prin descărcarea imediat după relevare a produsului patologic pe gelozâ-sânge Mueller-Hinton, gelozâ simplă şi introducerea tamponului într-un tub cu bulion tioglicolic (mediu nr. 1).
Atunci când se obţine şi un produs, rezultat din raclarea corneei, se va folosi câte o jumătate placă pentru fiecare produs.
Cultura dezvoltată în bulionul tioglicolic se trece pe aceleaşi medii solide. Culturile dezvoltate se apreciază din punct de vedere al tipului coloniilor, şi se fac repicări şi identificări conform procedeelor specificate. Pentru speciile rezistente, se face antibiogramă.

Interpretarea examenului bacteriologic nu este dificilă, în cazul asocierii celor 2 procedee.

Intre germenii cei mai frecvent întîlniţi în conjunctivite şi keratocon- juctivite sunt cei din grupul Haemophilus (influenzae şi egyptius); prezenţa lor poate fi presupusă atunci când în frotiu se observă bacili mici subţiri gram-negativi aşezaţi în diplo sau în lanţuri scurte intra- sau extracelulari şi în culturi cu colonii mici, slab dezvoltate, transparente; confirmarea lor se face pe criterii culturale (necesitatea mediului cu factori X şi V).
In unele conjunctivite subacute, se pot constata bacili gram negativi mai roşi cu capete rotunjite, extracelulari şi care se dezvoltă numai pe geloză-sânge. Caracterele menţionate, ca şi testul oxidazei pozitiv, pledează pentru germeni din grupul Moraxella.
Prezenţa unor germeni ca Streptococcus pneumoniae, Neisseria meningiidis şi Staphylococcus (ultimul foarte frecvent în orgelete) poate fi presupusă încă din frotiu şi de obicei se confirmă ulterior prin cultivare pe geloză-sânge.
Constatarea prezenţei de germeni gram negativi în frotiu cu culturi pozitive pe toate mediile, orientează spre Pseudomonas aeruginosa sau Enterobacteriaceae, diagnosticul diferenţial fiind uşor realizabil prin caracterele de cultură şi testul oxidazei.

7.4. Metoda de lucru a secreţiilor

Principiul metodei.
Examenul propriu-zis consta in efectuarea de frotiuri si insamantari , dupa ce s-a notat in prealabil aspectul si culoarea (puroi gros , fluid , sero-purulent , galben-verzui etc.) .
Tehnica prelucrarii variaza functie de modul de prelevare . In cazul in care prelevatul a fost adus intr-un recipient , se procedeaza in mod obisnuit la *efectuarea frotiu lui* si *insamantari cu ansa* **.**
In eventualitatea prelevarii cu pipeta Pasteur , se depune o picatura din produs pe mediul solid cu dispersia ulterioara cu ansa sau cu pipeta Pasteur in forma de '' L '' si o alta pe o lama avand grija sa nu se atinga varful pipetei . In continuare se aspira din mediul lichid o mica cantitate si suspensia obtinuta in lumenul pipetei se introduce in mediu lichid .

Daca produsul este adus pe mesa , aceasta se spala intr-o placa Petri sterila cu solutie salina fiziologica si se examineaza suspesia obtinuta .
Materialul recoltat pe tampon se insamanteaza prin stergerea acestuia pe suprafata mediului solid si prin imersia in mediul lichid . Din al 2-lea tampon se fac frotiuri (Metode de laborator vol.2 Ministerul Sanatatii Editura Medicala Bucuresti 1977 – pag. 88).

Bacterioscopia directa – se efectueaza pe frotiuri colorate *Gram ,* cu *albastru metilen* si eventual cu *Ziehl-Neelsen*.
Se apreciaza felul germenilor si frecventa lor astfel :

- **1 – 2 germeni** la **25 campuri** microscopice = *foarte rar ;*
- **1 – 2 germeni** la **10 campuri** microscopice = *rari ;*
- **1 – 5 germeni** la **un camp** microscopic = *relativ numerosi ;*
- **10 – 50 germeni** pe **un camp** microscopic = foarte numerosi .

Se noteaza de asemenea prezenta *celulelor epiteliale* de descuamare , *a trabeculelor de fibrina* si in special felul *celulelor sanguine* integritatea lor , date ce ofera indicatii asupra naturii procesului infectios . La puroiul din leziunile *granulomatoase* (**micetoame**) se face si examinarea directa intre lama si lamela (Metode de laborator vol.2 Ministerul Sanatatii Editura Medicala Bucuresti 1977 – pag. 88).

Tehnica de lucru pt. bacteriile aerobe .

Insamantarea probelor - difera funcţie de felul prelevatului .
Mediile necesare insamantarii in conditii normale sunt :

- *geloza-sange ;*
- *geloza AABTL ;*
- *un mediu solid* pt. *anaerobi*

In functie de aspectul si sediul leziunii , ca si de rezultatele bacterioscopiei directe , setul va fi completat cu mediul **Sabouraud** pentru *fungi .*
Incubarea mediilor se face la **37^0 C ;** cele uzuale se examineaza dupa **20 ore** si daca este necesar timp de **5 zile** .
In eventualitatea dezvoltarii de culturi pe toate mediile uzuale , diagnosticul se orienteaza spre germenii fără pretenţii culturale deosebite (*stafilococi , enterococi , Enterobacteriaceae , Pseudomonas , Acinetobacter , Flavobacterium*) . In aceasta situatie se noteaza aspectul coloniilor , se efectueaza frotiuri si se executa identificari prin teste **biochimice** si **serologice** .
Daca cultura este pozitiva numai pe **gelaza-sange** este posibila o etiologie *streptococica* sau *pneumococica* sau cu germeni din grupul *Pasteurella-Moraxella.*
Mediul Sabouraud se urmareste **24 – 96 ore** (Metode de laborator vol.2 Ministerul Sanatatii Editura Medicala Bucuresti 1977 – pag. 90).

8. MOD DE INREGISTRARE SI PREZENTARE A REZULTATELOR.

8.1. Registre de evidenta a analizelor

Registrele de evidenta a analizelor contin :
Numarul buletin analiza
Denumirea probei
Data recoltarii
Ora recoltarii
Punctul de recoltare
Conditii de recoltare
Cine a efectuat recoltarea
Analiza solicitata
Rezultatele analizelor
Data eliberarii buletinului de analiza
Cine a lucrat proba .

Acest mod de inregistrare asigura inregistrarea si confidentialitatea datelor si durata de pastrare in laborator.

8.2. Inregistrarile asistentului medical de laborator.

Inregistrarile asistentului sunt :

Temperatura camerei de insamantare
Data recoltarii
Detalii privind identificarea esantionului
Analizele microbiologice cerute si dilutiile folosite
Observatii asupra modului de recoltare a probelor .

8.3. Inregistrarile responsabilului de analiza.

Inregistrarile responsabilului de analiza sunt :
Data citirii probelor
Denumirea probei / tipul de analiza
Data recoltarii probelor respective

Nr. de inregistrare a fiecarei probe citite si activitatile depuse in continuare in cazul suspiciunii probei pozitive
Inregistreaza probele pozitive , eventual mentioneaza observatiile sale asupra probelor .

8.4. Inregistrarea si consemnarea datelor

Dupa completarea registrului de evidenta a probelor se trece la intocmirea buletinului de analiza ce contine rezultatul analizei, confirmat prin semnatura medicului si / sau a biologului responsabil de analiza .
Buletinul de analiza este intocmit de responsabilul de sector si este validat de medicul sef de laborator.
Eliberarea rezultatului se face pe baza de semnatura a persoanei care se prezinta pentru ridicarea buletinului de analiza.

8.5. Buletinul de analiza

Trebuie sa indice metoda utilizata, rezultatul obtinut si modul in care este exprimat. De asemenea, trebuie mentionate toate detaliile de lucru care nu au fost prevazute in prezentul Standard International , precum si eventualele incidente susceptibile de a fi influentat rezultatele finale.
Buletinul de analiza trebuie sa ofere toate informatiile necesare identificarii complete a esantionului.

8.6. ÎNREGISTRÃRI DOCUMENTE.

Registru de evidentã a determinãrilor
Caietul de lucru

9 . REPETABILITATE.

In Conformitate cu Standard SR ISO 5725 – 1 : 1997 privind '' Exactitatea metodelor de masurare si a rezultatelor masurarilor '' se utilizeaza doi termeni de baza pentru a caracteriza '' exactitatea unei metode de masurare '' : *justetea* si *fidelitatea*
Doua conditii ale fidelitatii denumite '' *repetabilitatea* si *reproductibilitatea* sunt considerate necesare si in numeroase cazuri practice , utile pentru caracterizarea variabilitatii unei metode

de masurare. *Repetabilitatea* si *reproductibilitatea* sunt doua extreme ale fidelitatii , prima reprezentand *minimul* , iar cea de-a doua *maximul* variabilitatii rezultatelor .
Diferenta absoluta dintre doua rezultate ale analizelor individuale, obtinute cu ajutorul aceleiasi metode, pe un material identic supus analizei, in acelasi laborator, de catre acelasi operator, utilizand aceeasi aparatura, intr-un scurt interval de timp nu trebuie sa depaseasca 30% din rezultatul cel mai mic. Termenul din acest Standard numit *limita de repetabilitate* reprezinta '' valoarea sub care este situata cu o probabilitate de 95 % valoarea absoluta a diferentei dintre doua rezultate ale unei incercari obtinute in conditii de *repetabilitate* .
Termenul *limita de reproductibilitate* reprezinta '' valoarea sub care este situata cu o probabilitate de 95 % valoarea absoluta a diferentei dintre doua rezultate ale unei incercari obtinute in conditii de reproductibilitate .
Cand conditiile de repetabilitate nu sunt indeplinite in 5% sau mai mult din cazuri, se recomanda a se cauta sursele posibile de eroare.

10. ESTIMAREA INCERTITUDINII.

Scopul Standardului SR ISO 5725 – 1 : 1997 este sa '' realizeze principiile generale care trebuie intelese atat in estimarea exactitatii (*justetei* si *fidelitatii*) metodelor de masurare si a rezultatelor masurarilor cat si in aplicatii si sa stabileasca prin experimente estimatii practice ale diferitelor masuri.

Pentru ca masurările să fie facute in acelasi mod este indicat ca metoda de masurare sa fie standardizata . Toate masurarile ar trebui efectuate conform unei *metode standard* . Aceasta inseamna ca trebuie sa existe un document scris care sa prezinte detaliat cum trebuie efectuata o masurare , incluzand de preferat , o descriere a modului in care este indicat sa se obtina si sa se pregateasca proba supusa masurarii .

Este indicat ca materialele utilizate intr-un experiment pentru determinarea exactitatii unei metode de masurare sa le reprezinte pe cele mai bune pentru care metoda respectiva de masurare se aplica intr-o utilizare normala . Ca regula generala , cinci materiale diferite furnizeaza in mod normal o gama suficient de larga a nivelurilor unei incercari pentru a permite stabilirea adecvata a exactitatii . Un numar mai mic poate fi acceptat in cadrul primului studiu al unei metode de masurare recent dezvoltate , atunci cand se apreciaza ca pot fi necesare modificari ale metodei urmate de experimente suplimentare privind exactitatea .

Doua metode de masurare pot fi disponibile pentru masurarea aceleiasi caracteristici , una fiind mai simpla si mai putin costisitoare decat cealalta , dar in general mai putin aplicabila . Valorile justetei si fidelitatii pot fi utilizate pentru a justifica utilizarea metodei mai putin costisitoare pentru unele categorii restranse de materiale (SR ISO 5725 – 1 : 1997).

11. RESPONSABILITATI

11.1. Seful de laborator

- Primeste comanda, contractul sau oferta pentru determinari.
- Nominalizeaza responsabilul de incercari.
- Informeaza in scris factorii respunzatori atunci cand se constata neconformitati, solicitand remedieri.

11.2. Responsabilul de incercare

- Inregistreaza proba in registrul de evidenta a analizei.
- Valideaza rezultatul incercarii si il inregsitreaza.
- Confirma rezultatele incercarii, prin semnarea si stampilarea buletinului de analiza.

11.3. Executantul lucrarii

- Verifica functionarea mijloacelor de incercare si/sau masurare.
- Executa incercarile conform regulilor de procedura si standarde.
- Inregistreaza rezultatele intermediare, calculele si rezultatele finale in caietul său.
- Comunica orice defectiune intervenita la mijloacele de incercare si/sau masurarea si observatiile cu privire la comportarea probei de analizat.

12.ANEXE

12.1. Anexa 1 Coloraţia Gram.

Bacteriile se examinează de obicei , fie pe frotiuri fixate si colorate Gram , Ziehl – Neelsen sau albastru alcalin Löffler etc , fie pe frotiu in preparate proaspete colorate prin metoda coloratiei vitale.Un frotiu se obtine punãnd pe suprafata unei lame curate , bine degresate , o picãturã din suspensia ce contine bacterii in ser fiziologic .*Fixarea* se face de obicei prin actiunea cãldurii si anume prin trecerea deasupra flãcãrii unui bec Bunsen in asa fel incât temperatura lamei sã fie suportatã de dosul palmei . Se va evita supraâncãlzirea lamei pentru a nu duce la carbonizarea bacteriilor .

Frotiurile fixate prin cãldurã pot fi colorate imediat sau se pot pãstra mai mult timp intr-un loc ferit de praf .

In cazuri rare se poate face fixarea cu solutii lichide precum :

- alcool metilic absolut , cu o duratã de fixare de 5 – 10 minute
- alcool etilic , cu o duratã de fixare de 20 minute ;
- amestec de alcool 5 ml. si formol 0,5 ml. cu durata de fixare 15 minute ;
- fixatorul Carnoy modificat (alcool etilic absolut 3 pãrti - acid acetic glacial 1 parte , timp de fixare functie de mãrimea preparatului de la câteva minute la 24 ore) .

Dacã suspensiile bacteriene contin grãsimi (de ex. preparate din lapte etc.) se face degresarea lor cu cloroform sau eter timp de 30 – 60 minute , functie de grosimea frotiului.

Dupã operatia de fixare si uscarea preparatului se face colorarea prin una din urmãtoarele metode .

Coloratia del Vecchio

- acoperire cu albastru metilen Löffler 10 minute
- spãlare cu apã de robinet

- acoperire cu solutie Lugol 10 minute
- spãlare , uscare , examinare la microscop cu imersie .

Corpusculii metacromatici apar colrati brun – vierzui , iar celula bacterianã in galben .

Prepararea solutiei de albastru de metilen Löffler :
- solutie saturatã in alcool de albastru metilen 30 ml.;
- KOH solutie 10 % (sau 1%) 2 picãturi (sau1 ml.)
- apã distilatã 100 ml.

Se foloseste dupã 7 zile de mentinere la 37 ^{0} C .

Metoda dublã de coloratie Gram

- acoperire cu sol. Violet de gentianã 1 – 2 minute;
- spãlare ;
- acoperire cu solutie Lugol 2 - 3 minute ;
- decolorare cu sol. alcool- acetonã (3 : 1)
- spãlare cu apã de robinet
- acoperire cu solutie fuxinã bazicã diluatã extemporaneu 1/10 …… 30"
- spãlare , uscare , examinare la microscop cu imersie .

Bacteriile gram **pozitiv** apar colorate in ***violet inchis*** , iar cele gram **negativ** apar colorate in ***rosu .***
Mecanismul coloratiei Gram are la bazã reactia dintre colorant si componentele structurale ale peretelui celular . La bacteriile gram negative peretele celular are in compozitie cca. 20 % lipide . Materialul lipidic se extrage in timpul decolorării cu alcool-acetonã , mãrind permeabilitatea peretelui celular la bacteriile gram negative , permitând complexului cristal violet – iod sã pãrãseascã celula . La germenii gram pozitivi , peretele celular având altã compozitie chimicã , se deshidrateazã in timpul tratamentului cu alcool acetonã , permeabilitatea se reduce si complexul cristal violet – iod nu poate fi extras .

12.2 Anexa nr. 2 Instrucţiuni de folosire a trusei AUXACOLOR

IMPORTANTA CLINICA .
Frecventa infectiilor fungice si in particular cele date de levuri au crescut net in ultimii 10 ani si profilul acestor infectii legate de evolutia maladiilor oportuniste s-au modificat considerabil .
Variabilitatea localizarii acestor infectii si diversitatea speciilor intalnite au facut ca cercetarea levurilor in produse patologice superficiale sau profunde sa devina o necesitate .
Pe de alta parte tinand cont de recrudescenta acestor infectii si folosirea din ce in ce mai frecvent a substantelor antifungice , asistam la emergenta suselor patogene rezistente . De aceea este necesar identificarea precisa a speciilor de levuri in cauza .

AUXACOLOR ® raspunde acestor necesitati si permite identificarea a 99 % din speciile intalnite in clinica .

PRINCIPIILE TESTULUI .
Galeria AUXACOLOR ® este un sistem de identificare al carui principiu consta in *asimilarea zaharurilor* . Cresterea levurilor este vizualizata prin virarea indicatorului de pH Galeria comporta in plus un test de rezistenta la *actidiona* si un test de detectie a activitatii *phenoloxidazei a Cryptococcus neoformans .*

NATURA TESTELOR UTILIZATE .
Galeria contine :

- un martor negativ pentru facilitarea citirii rezultatelor asimilatiilor ;
- 13 teste de asimilatie avand urmatoarele zaharuri :
  - glucoza (GLU)
  - celobioza (CEL)
  - maltoza (MAL)
  - trehaloza (TRE)
  - zaharoza (SAC)
  - adonitol (ADO)
  - galactoza (GAL)
  - melesitoza (MEL)
  - lactoza (LAC)
  - xiloza (XYL)
  - rafinoza (RAF)
  - arabinoza (ARA)
  - inositol (INO) .

Fiecare zahar este deshidratat in prezenta unui mediu de baza si a unui indicator de pH – *bromcresol purpur* . Cresterea levurilor se traduce prin virarea indicatorului din *albastru* in *galben* si de aparitia unei tulburari in godeu .

- 1 test de rezistenta la *actidiona* ce contine un indicator de oxidoreducere . Rezistenta la actidiona se traduce prin cresterea si virarea indicatorului din *albastru* in *rosu* sau *incolor* .
- 1 test de *fenoloxidaza* ce permite detectarea activitatii *fenoloxidazice* a lui *Cryptococcus neoformans .* Un rezultat pozitiv se traduce printr-o coloratie *verde* sau *maron* .

COMPONENTELE TRUSEI .
Trusa cu 10 teste , cod 56503 contine :

- 1o microplaci cu 16 godeuri in ambalaj individual ;
- 10 benzi adezive ;
- 10 medii de suspensie gata pregatite ;
- 10 micropipete ;
- 1 nota de instructiuni ;
- 1 carnet cu foi de rezultate .

MATERIAL NECESAR DAR NEFURNIZAT ODATA CU TRUSA .
Kit MARTOR de opacitate : cod 56499
CONSERVARE .

- se face la 2 – 8^0 C;

- data de expirare este inscrisa pe cafraj ;
- folosirea '' *in vitro* ''.

MODUL DE FOLOSIRE

- Se porneste de la o cultura de 24 ore sau 48 ore de pe mediul Sabouraud sau Sabouraud + cloramfenicol sau / si gentamicina si se insamanteaza mediul de suspensie cu o cantitate de levuri suficienta pentru a obtine o opacitate echivalenta cu martorul de opacitate cod 56499 .
- Se omogenizeaza suspensia cu ajutorul unei micropipette prin aspirare si refulare in mai multe reprise a continutului din flacon .
- Se preleveaza inoculul cu o micropipeta si se tine vertical distribuind cate 2 *picaturi* (**100 µl.**) in fiecare godeu al placii .
- Se acopera microplaca cu adeziv asigurandu-ne ca placa este bine acoperita si se incubeaza **24** sau **48 ore** (sau **72 ore** daca este necesar) la temperatura de 30 ± 2 ^{0} C .

CITIREA REZULTATELOR .

Daca este posibil se scoate adezivul pentru a facilita citirea rezultatelor respectand conditiile de sterilitate si daca este necesar se are in vedere reincubarea probei . In acest caz se relipeste cu grija adezivul , notand rezultatele in carnetul de lectura facand referire la TABELUL de interpretare .

INTERPRETAREA REZULTATELOR .

Numarul caracterelor biochimice utilizate pentru identificare este de **15** *caractere* grupate cate **3** pentru codificare numerica .

- glucoza (GLU)	- inositol (INO)	- arabinoza (ARA)
- maltoza (MAL)	- celobioza (CEL)	- adonitol (ADO)
- zaharoza (SAC)	- trehaloza (TRE)	- phenoloxidaza
- galactoza (GAL)	- adonitol (TRE)	
- lactoza (LAC)	- melesitoza (MEL)	
- rafinoza (RAF)	- xiloza (XYL)	

Se atribuie la fiecare reactie **negativa** *valoarea ''0''* si la fiecare reactie **pozitiva** o valoare in raport cu *pozitia sa in triplet* :

- valoarea **1** pentru pozitia nr. **1**
- valoarea **2** pentru pozitia nr. **2** } ***in tripleta*b .**
- valoarea **3** pentru pozitia nr. **3**

Aditia de trei valori dau in final o cifra care permite obtinerea unui profil numeric din **5 cifre** . Ce cauta acest profil in lista de maijos .

Dupa completarea acestei identificari este necesar de a utiliza **6** alte **caractere** , egal grupate cate **3** , ce dau de asemenea doua cifre suplimentare , identificarea finala raportand la testele biochimice si criteriile morfologice realizate in conditiile obisnuite.

- pigmentare (PI.)
- miceliu / pseudomiceliu (My, PS MY) ;
- artrospori (AR.)
- clamidospori (CHL.) ;
- capsula (CA.)
- cresterea la **37^0 C .**

De exemplu : profilul numeric la *Candida glabrata*

1 0 4 0 0 0 4

Teste biochimice ***Teste complementare*** .

In cazul obtinerii unui profil numeric non-referit (profil rar) , se face referire la TABELUL de interpretare .

12.3 ANEXA 3. Instrucţiuni de utilizare a truselor de aglutinare a grupelor de streptococci.

Slidex Strepto-Kit este un test de aglutinare a particulelor de latex pentru gruparea rapida a streptococilor β hemolitici A , B , C , D , F si G Lancefield . Acest test permite identificarea facila a coloniilor de streptococi β hemolitici din cultura **REZUMATUL si EXPLICATIILE**

TESTULUI .
Streptococii β hemolitici prezinta cel mai adesea antigene specifice de grup ce pot fi extrasi si identificati cu serul *antigrup .* Astfel reactivii reprezentati de particulele de latex sensibilizat de anticorpi dirijati contra antigenelor se leaga de antigenele specifice antrenand o aglutinare vizibila a particulelor de latex .

PRINCIPIUL TESTULUI .
Slidex Strepto-Kit este un test de aglutinare pentru identificarea streptococilor β hemolitici grup A , B , C , D , F , G .
Dupa cultivare pe *mediul geloza-sange* , coloniile izolate de streptococi β hemolitici se preleveaza si se plaseaza intr-un tub ce contine *reactivul de extractie .* Antigenele specifice de grup aflate in peretele bacterian sunt extrase enzimatic dupa o tehnica simpla si precisa . Extractul de antigene este identificat de catre particule de latex sensibilizate de catre un anticorp *anti-antigene* a grupelor de streptococi . Daca antigenul de grup este prezent reactivul latex corespondent este aglutinat . Daca antigenul este absent reactivul *latex* ramane in suspensia omogenizata .

REACTIVII . Componentele trusei .

1 X 2,5 ml.	**Latex Streptococcus grup A** (merthiolat de sodiu 0,09 g / l + azida de sodiu 0,95 g / l.)
1 X 2,5 ml.	**Latex Streptococcus grup B** (merthiolat de sodiu 0,09 g / l + azida de sodiu 0,95 g / l.)
1 X 2,5 ml.	**Latex Streptococcus grup C** (merthiolat de sodiu 0,09 g / l + azida de sodiu 0,95 g / l.)
1 X 2,5 ml.	**Latex Streptococcus grup D** (merthiolat de sodiu 0,09 g / l + azida de sodiu 0,95 g / l.)
1 X 2,5 ml.	**Latex Streptococcus grup F** (merthiolat de sodiu 0,09 g / l + azida de sodiu 0,95 g / l.)
1 X 2,5 ml.	**Latex Streptococcus grup G** (merthiolat de sodiu 0,09 g / l + azida de sodiu 0,95 g / l.)
2 X 10 ml.	**Enzima de extractie** Reluat in 10 ml. apa distilata sterila . Stabilitate : 6 luni la **2 – 8 ^{0} C ;** Merthiolat de sodiu **0,1** g / l
1 X 1 ml.	**Control POZITIV** Extract enzimatic din suse de streptococi de grup A , B , C , D , F , G . Merthiolat de sodiu **0,1** g / l

Spitalul Clinic de Boli Infecţioase"Sf.Parascheva„ Iaşi
Laboratorul de analize medicale
Str.Octav Botez Nr 2

PROCEDURA SPECIFICĂ

EXAMENUL BACTERIOLOGIC AL URINII

Cod PSL – 08

A LABORATORULUI DE ANALIZE MEDICALE

STANDARD DE REFERINTA: SR EN ISO 15189: 2007

EDITIA: 1
REVIZIA: 0
Data: 01.03.2011

DIFUZAT IN REGIM CONTROLAT: EXEMPLAR Nr.

DESTINATAR :……

APROBAT	VERIFICAT
Manager	Manager Calitate
Prof.Dr. Carmen Dorobăţ	Dr. Diana Matei

Elaborat:
Manager Tehnic **Şef Compartiment Laborator**
Dr. Rodica Fântânaru

Data aprobarii : 01.03.2011
Data aplicarii : 15.03.2011

Avertisment : Documentul de fata este proprietatea **Spitalul Clinic de Boli Infecţioase"Sf.Parascheva„ Iaşi** - Laborator de analize medicale.
Reproducerea si difuzarea documentului sunt in exclusivitate dreptul societatii. Copiile sunt numerotate si controlate.

LISTA DE DIFUZARE / RETRAGERE

Locul difuzării	Primit				Retras			
	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură
R. C	0.	01.03. 2011	Dr. Diana Matei					
Manager General	1.	01.03. 2011	Prof.Dr. Carmen Dorobăţ					
Manager Tehnic		01.03. 2011	Dr. Rodica Fântânaru					
R. C	2.	01.03. 2011	Dr. Diana Matei					
Şef Compartiment Laborator	3.	01.03. 2011						
RENAR	4.	01.03.2011	Ing. Cristian Nichita					

INDICATORUL REVIZIILOR

Nr. Crt	Data	Editia/ revizia	Identificari modificare Capitol, subcapitol, pagina modificata, continut modificari	Functia si semnatura		
				Elaborat	Verificat	Aprobat
1	01.03. 2011	Ed. 1/ Rev. 0/	Elaborat PSL -08, in editia 1, revizia 0	Manager Tehnic Dr. Rodica Fântânaru Şef Compartiment Laborator	Managerul Calitatii Dr. Diana Matei	Manager Prof.Dr. Carmen Dorobăţ

0. CUPRINS

CAPITOLUL	
0	Cuprins
1	Scop
2	Domeniu de aplicare
3	Documente de referinţa
4	Definiţii şi abrevieri
5	Descriere procedura
6	Responsabilitaţi
7	Inregistrari şi anexe

1. SCOP

Scopul acestei proceduri este de a prezenta metodologia diagnosticului bacteriologic a unor produse biologice prin coprocultură si urocultura in conformitate cu cerintele impuse de normele de calitate in vigoare, in vederea diagnosticării enteritelor şi bolii diareice cu bacterii patogene si a infectiilor urinare (ITU).

2. DOMENIU DE APLICARE .

Examenului bacteriologic al urinii consta în identificarea speciilor ce produc ITU. Ea se practica dupa o metoda standard pentru germenii uzuali – urocultura *cantitativa* si *calitativa* – iar in situaţii speciale se efectueaza numai urocultura *calitativa .*

Infectiile tractusului urinar intereseaza practic toate organele de la rinichi pană la uretră, din care vezica urinară şi uretra sunt cel mai frecvent afectate .

Din punct de vedere patogenic si clinic , infectiile căilor urinare se pot prezenta sub urmatoarele aspecte majore :

- infectii complicate, de tip chirurgical, când sunt prezente modificări inflamatorii uropatii obstructive , calcul etc;
- infectii necomplicate de aspect medical, fără anormalităţi anatomice ;

In afara de infectii , contaminarea urinei poate să apara şi in situaţii fiziologice speciale (sarcina in ultimul trimestru)

La nivelul laboratorului de analize medicale Pro Diagnostic, persoanele care se adresează pentru investigaţii medicale în mod curent, fac parte din următoarele categorii:

- bolnavi;
- purtatorilor de germeni infectiosi ;
- contacti din focare .
- la cerere , cu plata.

3. DOCUMENTE DE REFERINTÃ

3.1. MANUALUL CALITATII , Cod: MC – 03CL, Editia: 1, Revizia: 0.

3.2. SR EN ISO 15189:2007 – Laboratoare medicale. Cerinţe particulare pentru calitate şi competenţă;

3.3. SR EN ISO 9000 :2006 - Sisteme de management al calitatii. Principii fundamentale si vocabular.

3.4. SR EN ISO 9001:2001 - Sisteme de management al calitatii. Cerinte.

3.5. Documente conexe:

1. Tratat de microbiologie clinica . Autori: Dumitru Buiuc si Marian Negut . Editura Medicala Bucuresti 1999 .
2. BIOS nr. 1 – 2 / 1981 Institutul Cantacuzino Bucureşti – (cap. Vibrio şi Pseudomonas)
3. BIOS nr. 3 - 4 / 1981 Institutul Cantacuzino Bucureşti – (cap. Diagnosticul de laborator în infecţiile determinate de Salmonella,Shigella,E.coli,Yersinia enterocolitica,Vibrio)
4. Bacteriologie medicala vol.2 . Autori V. Balbaie si N.Pozsgi Editura medicala 1985
5. Laboratorul clinic in infectii – Matei Bals . Editura Medicala Bucuresti 1982
6. Instructiuni de utilizare si verificare termostate 37°C (tip IT 25 APRIL.)
7.Instructiuni de utilizare a autoclavului (Autoclav tip SA-260FA)
8.Norme de verificare a calitatii mediilor.
9.Instructiuni de folosire a microscopului MC 50
10.Instructiuni de folosire a truselor de aglutinare (I.C si Sanofi Pasteur)
11.Instructiuni de utilizare si verificare termostate 37°C (tip IT 25 APRIL.)
12.Instructiuni de utilizare a autoclavului (Autoclav tip SA-260FA)
13.Norme de verificare a calitatii mediilor.
14.Instructiuni de folosire a microscopului MBL2000
15.Instructiuni de folosire a truselor de aglutinare (I.C si Sanofi Pasteur)

4. DEFINITII SI ABREVIERI

4.1. DEFINITII .

Sediment urinar **:** reprezintă sedimentul ubţinut din centrifugarea urinii la o turaţie de maximum 1000 rotaţii/minut fiind format din două categorii principale- *elemente organizate* şi *elemente neorganizate.*

Funcţia homeostatică a rinichilor: este reprezentată de menţinerea constantă a compoziţiei şi volumului lichidului extracelular.

Funcţiile homeostatice ale rinichiului pot fi încadrate în următoarele patru categorii:

a) *reglarea volumului şi osmolarităţii* fluidelor organice prin procese selec-tive de resorbţie sau secreţie a ionilor şi a apei;

b) *reglarea echilibrului acido-bazic* în cooperare cu plămînul şi cu dife-ritele sisteme tampon din spaţiul extracelular. Controlul pH-ului joacă un rol însemnat, alături de păstrarea constanţei şi distribuţiei fiecărui ion în parte;

c) *eliminarea produselor ţinale ale metabolism.ului* — solubile şi nevolatile (uree, acid uric, creatină, creatinină, bilirubină conjugată, electroliţi etc.), precum şi a substanţelor străine, metabolizate prin enzimele „xenobiotice".

d) *participarea la unele procese metabolice de biosintezâşi reglare:* biosinteza, reglarea şi secreţia unor hormoni ca renina, eritropoietina, 1, 25-dihidroxicolecalciferol (reglarea nivelului Ca^{2+} în lichidul extracelular).

Nefronul : reprezintă unitatea morfo-funcţională renală La om fiecare rinichi conţine cca 1 milion de nefroni.

Formarea urinei: etapele formării urinei se bazează, în principal, pe combinaţia dintre unele procese fundamentale care se petrec la nivelul diferitelor segmente ce alcătuiesc nefronul.

Aceste procese sînt: *filtrare,* la nivelul glomerulului; *retroresorbţie specifică* în tubuli şi *excreţie tubulară,* prin care substanţele extrase trec din lichidul extracelular, prin transfer, în urină; *secretia* substanţelor formate în rinichi.

Clerance-ul renal: denumit şi *coeficientul de epurare* al unei substanţe sanguine eliminată prin rinichi, este exprimat prin raportul dintre debitul urinar al acestei substanţe pe minut şi concentraţia sa în plasmă.El este egal cu volumul de plasmă care este epurat în fiecare minut de o anu-mită substanţă, ca urmare a travaliului renal. Clearence-ul unei substanţe sanguine, eliminate prin rinichi, este redat prin raportul dintre debitul urinar al acestei substanţe pe minut şi concentraţia sa plasmatică, adică:

$$C = \frac{U \bullet V}{P}$$

în care:

C = clearence (coeficientul de epurare);
U = concentraţia urinară a substanţei, exprimată în mg/ml;
V = volumul de urină emis, în ml/minut;
P = concentraţia plasmatică a substanţei, în mg/ml.

Valorile de clearence se dau în ml de plasmă. Substanţele ce sînt filtrate şi resorbite au o eliminare inferioară cantităţii filtrate. In afară de uree, ce constituie un caz particular, substanţele se clasează în trei categorii din punct de vedere al coeficientului lor de epuraţie (clearence).

Infectia tractusului urinar (ITU) – este definită de prezenţa masivă a unor microorganisme patogene sau conditionat patogene , a leucocitelor (ca expresie a procesului inflamator) , cu sau fara hematii ;

Piurie si *bacteriurie* – principalele semne paraclinice ale ITU pe care le determinam in urina sunt *piuria* care semnaleaza inflamatia si *bacteriuria* , care indica agentul etiologic . *Piuria* este eliminarea a peste 400.000 leucocite / ora . Poate avea mai multe cauze , ITU fiind numai una dintre ele .Predictia pozitiva pentru ITU a unei piurii izolate este mediocra .

Bacteriuria – prezenta bacteriilor in urina poate fi urmarea contaminarii probelor mictionate cu microbiota uretrei distale sau vulvo-vaginale , a infectiei căilor urinare sau a colonizarii urinei vezicale cu contaminanti ocazionali . Semnificative clinic sunt :

- - *bacteriuriile cu bacterii patogene* , indiferent de cantitatea in care sunt prezente.
- - *bacteriuriile cu bacterii conditionat patogene* ,care depasesc semnificativ statistic concentratia contaminantilor uzuali ai probelor de urina corect prelevate .De aceea bacteriuriile mentionate sunt urmarite numai prin determinari cantitative .

Colonizarea urinei – bacteriile *conditionat patogene* contamineaza accidental urina vezicala unde se inmultesc realizand , tranzitoriu , bacteriurii , care nu se insotesc insa cu *piurie* . Lipseste deci atributul infectiei bacteriene :*inflamatia* (cf. Tratat de microbiologie clinica . Autori: Dumitru Buiuc si Marian Negut . Editura Medicala Bucuresti 1999 – pag.275).

Glomerulonefrita acuta (GNA) – modificari ale componentelor structurale glomerulare (celulelor endoteliale , membranei bazale , podocitelor , celulelor epiteliale ale foitei parietale capsulare , celulelor mezangiale si matricei mezangiale) avand etiologii diferite : GNA

poststreptococica , GNA infectioasa nestreptococica , GNA virale , GNA alergice , nefropatia gravidica primara , nefropatia glomerulara in sindrom Goodpasture ;
Contaminanti plagii sunt reprezentati de tulpinile selectate cu cel mai mare potential patogen sau asociatii bacteriene sinergice (de ex. *E. coli* si *Bacteroides fragilis*) care invadeaza tesuturile.
La nivelul oricarui tesut denudat se disting doua zone:
Spatiul mort (tesut necrotic , hematom , exsudat stagnant) contaminat cu diverse microorganisme care se inmultesc independent la acest nivel
Tesutul viabil subiacent de la care porneste procesul de cicatrizare si care raspunde prin inflamatie la contaminarea , colonizarea sau invazia microbiana (Tratat de microbiologie clinica . Autori: Dumitru Buiuc si Marian Negut . Editura Medicala Bucuresti 1999 – pag. 202)
Infectii nosocomiale – '' infectia dobândită ca un rezultat al spitalizarii sau al tratamentului primit in spital şi care nu este in incubatia bolii sau in momentul internarii '' (Infectiile nosocomiale de Liana Monica Deac– Editura DACIA; Cluj Napoca 1997. pag nr. 9)

4.2. Simboluri si prescurtari

- E. coli – Escherichia coli
- B.diz – bacilul disenteric (Shigella dysenteriae)
- Y. enterocolitica – Yersinia enterocolitica
- V. cholerae – Vibrio cholerae
- Ps. aeuginosa–Pseudomonas aeruginosa(bacil piocianic)
- Staph. hem. = Staphylococ hemolitic
- SF tamponat – ser fiziologic tamponat
- Ord. M.S. nr. = Ordinul Ministerului Sanatatii nr.
- sp. - *species*
- BDA – boala diareică acută.
- Dg. – diagnostic
- TIA – toxiinfecţie alimentară
- SN – număr serie
- ITU – infectia tractusului urinar

5. DESCRIEREA ACTIVITATII

5. 1. ECHIPAMENTE DE LUCRU SI MIJLOACE DE MASURARE

5.1.1. Termostat incubator cu precizie tip IT25 37° ± 0,5 – aparat electric pentru termostatarea dezvoltarii bacteriană.
SN: FS/2001
5.1.2. Sterilizator electric ESAC50 automatic 180°C – asigura sterilizarea cu caldura uscata a obiectelor de sticla, portelan, hartie, vata, instrumente metalice la temperatura de 180°C timp de 30-60 de minute.
SN: 234/2005

5.1.3. Autoclav tip SA-260FA realizeaza sterilizarea prin incalzire cu vapori prin presiune pentru : medii de cultura, produse patologice, obiecte de cauciuc. Temperatura este de 121°C timp de 20-30 de minute

SN: 717782

5.1.4. Lampa U.V. – radiatii U.V. cu efect bactericid pentru ste-rilizarea hotei de însămânţare a probelor.

5.1.5. Microscop optic binocular MBL2000

SN: 1120021191

5.1.6. Hota bacteriologica cu flux laminar HVF600

SN: 135/2006

5.1.7. Sticlarie curenta : eprubete , baloane , lame , lamele

5.1.8. Frigider .

5.1.9. Bec de gaz .

5.1.10. Placi Petri de plastic de unica folosinta .

5.1.11. Trusă coloraţie Gram.

5.1.12. Solutie pentru determinarea catalazei ;

5.1.13. Seruri de aglutinare ;

5.1.14. Bandelete şi/sau reactiv pentru determinarea oxidazei

5.1.15. Pentru determinarea reactiei indolului .

5.1.16. Pipete gradate sterile de 1ml ± 0,02 ml sau 10ml ± 0,2

5.1.17. Eprubete de 20 ml si flacoane cu capacitatea de 250 ml , 500 ml , pentru sterilizarea si pastrarea mediilor de cultura.

5.2. PREGATIREA MATERIALELOR DE LUCRU SI DECONTAMINARE LOR.

5.2.1. Pregatirea materialelor de lucru Materialele folosite pentru recoltarea probelor sunt sterile si de unica folosinta iar materialele folosite in tehnicile de lucru sunt sterilizate cf. Standard SR ISO 7218 / noiembrie 2000 pct 6.1 - pag. 15).

5.2.2. Decontaminarea . După folosire materialele si continutul lor se decontamineaza inainte de curatare sau aruncare fie prin sterilizare in caldura umeda si/sau decontaminare prin imersare in solutii dezinfectante cf. Standard SR ISO 7218 / 2000 pct. 6.6.
Materialele se spala numai dupa ce au fost decontaminate .
Pipetele Pasteur se folosesc o singura data .

5.2.3. Prepararea mediilor de cultura si reactivilor.

Prepararea si sterilizarea mediilor de cultura se efectueaza (cf. Standard SR ISO 7218 / 2000) respectandu-se şi recomandarile furnizorului de mediu functie de tipul de mediu folosit (medii deshidratate sau preparate din componente de baza .)

*****)** Mediile de cultura, solutiile de diluare trebuiesc sterilizate conform cap.6.1din ISO 8261 / 1989.

***) Materialele din laborator folosite pentru dilutiile esantioanelor de analizat trebuie sa corespunda ISO 8261.

Determinarea si ajustarea pH-ului mediilor se efectueaza dupa sterilizarea si racirea la 25^0 C cu o toleranta de ± 0,2 unitati (cf. Standard 7218 / 2000 pct. 7.2.2. Ajustarea pH-ului se realizeaza cu solutii de NaOH (40 g/litru circa 1 mol / litru), sau o solutie de HCl (n 36,5 g / litru, circa 1 mol / litru) (cf. Standard 7218 / 2000 pct. 7.2.2.)

5.3. TEHNICI DE EXAMINARE SI PRVENIRE A CONTAMI-NARII

5.3.1. Masuri de igiena in timpul examinarii .

Trebuie luate masuri pentru a lucra , pe cât posibil in conditii aseptice astfel:

- se asigura ca zona de lucru sa fie curată şi să nu existe curenti de aer (usi si ferestre inchise) ;
- se decontamineaza suprafata de lucru , inainte si dupa lucru , cu un dezinfectant adecvat ;
- se asigura inainte de inceperea lucrului, că sunt procurate toate cele necesare pentru a duce analiza la bun sfarsit ;
- in cazul in care se lucreaza in boxa aseptica , inainte de a incepe lucrul trebuie folosite manuşi sterile sau dezinfectanti pentru maini (de exemplu , un amestec de polialcooli) , pentru evitarea contaminarii incrucisate ;
- când nu se lucreaza in boxa aseptica , se deschid eprubetele si flacoanele in vecinatatea flacarii , tinandu-le in pozitie cât mai inclinata ;
- pe cât posibil , se lucreaza fără a face mişcari inutile ;
- se sterilizeaza ansele , inainte si dupa utilizare , la flacără. Ptr. evitarea improşcării de substante si microorganisme , este de dorit să se foloseasca un incinerator . Daca este posibil , se utilizeaza anse sterile de unica folosinta.
- se introduc pipetele , spatulele , etc. utilizate , in recipiente speciale , care contin un dezinfectant adecvat (de exemplu , *solutie de hipoclorit de sodiu* pentru pipete ,) , inainte de a le decontamina ;
- se introduc cutiile Petri , mediile de cultura şi orice alt echipament care ar putea contine microorganisme , in recipiente speciale , inaintea decontaminarii , care precede operatia de spalare ;
- se introduc materialele de unica folosinta , in recipiente adecvate , inaintea decontaminarii sau incinerarii ;
- se indeparteaza imediat orice portiune de produs varsat in timpul lucrului , cu ajutorul tampoanelor de vata sau de orice material adecvat , impregnat cu etanol 70 % (V/V) , sau cu orice alt dezinfectant , apoi se curata si se dezinfecteaza suprafata , inainte de a continua lucrul . (cf. SR ISO 7218 – pag. 21)

Pentru a se evita formarea aerosolilor , cauza principala a contaminarii mediului inconjurator şi a infectarii se acorda o atentie deosebita la urmatoarele manevre :

- când se deschid cutii Petri , eprubete si flacoane ;
- când se folosesc agitatoare , seringi , centrifuge etc. ;
- când se golesc pipetele prin suflare ;
- când se sterilizeaza ansele de inoculare , umede sau acele ;

- când se deschid fiole care contin culturi liofilizate . (cf. SR ISO 7218 – pag. 20 – 22).

5.3.2. Actiuni si / sau masuri preventive

5.3.3. Protectia personalului

- Obligatorie purtarea halatului
- Folosirea lampei de U.V. (inainte si dupa insamantare)
- Folosirea hotei de insamantare
- Pipetele sunt prevazute cu dop de vata nehidrofila pentru a preveni aspirarea accidentala a esantionului
- Flambarea ansei se face intai la baza flacarii si apoi la varf pentru a impiedica raspandirea germenilor
- Dezinfectia suprafetelor de lucru cu solutii dezinfectante

5.3.4. Protectia mijloacelor de incercare si / sau masurare

- Sticlaria sterila se pastreaza in dulapuri speciale
- Sticlaria sterila se foloseste maxim 6 zile
- Executarea periodica a serviciilor de intretinere si curatire zilnica a aparaturii
- Verificarea si inregistrarea temperaturii din incaperea de lucru

5.3.5. Verificarea stării de functionare si confirmarea metrologica a mijloacelor de masurare

- Verificarea de doua ori pe zi a temperaturii termostatelor
- Teste privind efectuarea corectă a sterilizarii :

- fizico-chimice ;

- Controlul indirect al sterilizarii – controlul sterilitatii materialelor de laborator
- Termostatarea 24-48 de ore a mediilor de cultura gata pregatite
- Tulpinile de referinta pentru controlul mediilor de cultura.

O parte din verificari pot fi efectuate de asistent si o alta parte sub controlul medicului

5.4. DETERMINAREA GERMENILOR PATOGENI DIN PRODUSELE BIOLOGICE.

5.4.1. DETERMINAREA GERMENILOR PRIN UROCULTURA

5.4.1.1. Recoltarea probelor de urina

Caracteristicile probei de urină în funcţie de perioada de emisie sunt influenţate de mai mulţi factori Este cunoscut că, în funcţie de o multitudine de factori, compoziţia urinei variază de la o emisie la alta, motiv principal de eroare în diverse dozări, cînd nu se cunoaşte tipui de probă sau cînd urina nu a fost corect colectată. :

URINA DE DIMINEAŢA

Este cea mai concentrată şi prezintă, de cele mai muite ori, un pH acid. Aceste caracteristici pledează pentru folosirea ei la exarnenul sumar de urină. Aciditatea produsului asigură o stabilitate mai mare a componen-telor sedimentului, iar concentraţia crescută elimină posibili-tatea erorii unei determinări incomplete a elementelor acestuia.

Pentru diagnosticul infectiilor urinare , recoltarea urinii se va face inainte de inceperea oricarui tratament antiinfectios sau dupa cel putin 3 – 5 zile dupa intreruperea lui . Examenul de urina se poate face si in timpul unui tratament , pentru controlul eficacitatii acestuia .
In general sondajul vezical trebuie evitat , pe cat posibil , deoarece simpla introducere a unei sonde prin uretra antreneaza germeni din uretra anterioara in vezica , mijlocind astfel o infectie urinara . Aceasta manevra este periculoasa la bolnavii cu o aparare deficitara , la cei spitalizati de mai mult timp , la care se produce repede o colonizare cu ''*flora de spital* '' , de obicei rezistenta laantibioticele uzuale .

Urina se recolteaza de preferinta *dimineata* (urina de peste noapte) , sau dupa cel putin 3 – 4 ore de la mictiunea precedenta . In timpul recoltarii , urina poate fi contaminata sau suprainfectata cu germeni oportunisti din uretra anterioara sau de la nivelul perineului si din regiunea uretro-vaginala la femeie . Recoltarea trebuie sa evite aceste contaminari si examenul trebuie limitat numai la flora abundenta si net preponderenta (apreciere cantitativa).
Pentru minimalizarea erorilor posibile de recoltare si din cauza unor eventuale bacteriurii intermitente , examenele de urina , mai ales la femei , vor fi repetate de *2 – 4 ori la 24 ore* interval .
Recoltarea se face de regula , luind o proba de minimum *10 – 25 ml.* '' din zbor '', din mijlocul jetului urinar , dupa ce in prealabil s-a facut o toaleta externa amanuntita .
La *femeie* , recoltarea necesita o toaleta intensa . Inainte de recoltare, pacientele vor fi bine instruite si eventual asistate de un personal competent . Pentru ca recoltarea sa decurga corect , sunt necesare : *4 – 5 tampoane sterile* , apa fiarta si racita , sapun , un vas steril de *200 – 300* ml. cu gura lata .
Dupa spalarea pe maini se plaseaza un tampon steril in sfera genitala pentru a preveni contaminarea de eventualele scurgeri vaginale , daca este cazul . Se efectueaza toaleta , de 2 - 3 ori iar apoi se efectueaza recoltarea propriu-zisa . Numai dupa aceasta toaleta , va urina , lasand sa curga aproximativ *50 – 100 ml.* urina , iar apoi va recolta '' din zbor '' , in flaconul steril o cantitate de *25 – 100 ml.* urina . Gura si partea anterioara a flaconului , respectiv capacul , nu trebuie sa se atinga cu mana sau cu o parte a corpului .
La *barbat* recoltarea se face respectand de asemenea toate precautiile , pentru ca urina sa nu fie contaminata cu germeni oportunisti de pe tegumente si mucoasele invecinate . Daca bolnavul are o secretie uretrala se fac frotiuri din secretie (gonococii pot fi vazuti deseori pe preparatele colorate cu albastru de metilen si Gram , dar nu cresc pe mediile uzuale)
La *persoanele imobilizate la pat*, care nu pot coopera , ca si la copii mici , recoltarea se efectueaza de un personal competent si rutinat , care dupa ce face o toaleta amanuntita a zonei urinare va fixa (eventual cu o banda adeziva) un flacon steril in dreptul meatului urinar si va pandi recoltarea urinei , pentru a trimite imediat proba la laborator .

La *persoanele cu o sonda vezicala permanenta* , urina se recolteaza cu seringa , punctionand steril sonda in apropierea meatului urinar ; in nici un caz nu se va recolta din punga colectoare .
Dupa *recoltare* se pune capacul , se eticheteaza flaconul care va fi dus imediat la laborator , pentru ca urina sa fie examinata in primele *30 de minute* de la recoltare . Daca acest lucru nu este posibil , urina trebuie plasata imediat la frigider , urmand sa fie examinata in orele urmatoare (Laboratorul clinic in infectii – Matei Bals . Editura Medicala Bucuresti 1982 - pag. 131 – 132).
Practici gresite la prelevari curente : recoltarea urinei in vas mare (oala de noapte etc.) si transvazarea probei in eprubeta pentru expedierea la laborator (Tratat de microbiologie clinica Autori: Dumitru Buiuc si Marian Negut . Editura Medicala Bucuresti 1999 – pag. 277) .

5.4.2. Transportul probelor de urina .

Transportul probelor si insamantarea trebuie realizate in cel mult **2 ore** de la prelevare , exceptand prelevatul pentru *Neisseria meningitidis*, care se va insamanta *imediat* (Metode de laborator vol.2 Ministerul Sanatatii Editura Medicala Bucuresti 1977–pag.108).

5.4.3. Receptia probelor si pastrarea lor.

Personalul din laborator verifica la receptia probelor, starea acestora. Daca starea lor este nesatisfacatoare , sau sunt incorect recoltate , laboratorul , in general , poate refuza probele . In situatii speciale , personalul le poate analiza , dar trebuie sa semnaleze rezerve asupra validitatii rezultatelor .

Probele admise in laborator trebuie sa aiba toate datele de identificare, astfel incat sa poata fi urmarite pana la redactarea buletibului de analiza .
Acestea constau in :

- data si ora recoltarii probei ;
- ora primirii probei in laborator ;
- informatii despre operatia de recoltare , conditii de recoltare (au fost facute sub tratament chimioterapic , sau recontrol dupa tratament sau de la contacti focar , etc.)
- cine a efectuat recoltarea probelor ;
- numele solicitantului si adresa ;
- profesia
- varsta ;
- locul de munca sau adresa colectivitatii de copii unde s-a recoltat proba ;

Pana la inceperea analizelor , probele trebuie depozitate in conditii care sa previna orice modificare a numarului de organisme prezent .

In vederea evitarii contaminarii mediului si a probelor luate in lucru , se recomanda sa se lucreze in incaperi speciale sau in boxa aseptica .

Protectia mediului impotriva contaminarii are o deosebita importanta in timpul esantionarii probei luate in lucru mai ales a acelor probe provenite de la bolnavi cu suspiciune de difterie , scarlatina etc. .
Aceste activitati trebuie efectuate in spatii care sa asigure securitate.

Probele se manipuleaza astfel incat sa se evite orice risc de contaminare . Pentru a se realiza aceasta , se au in vedere urmatoarele precautii :

- cand nu se lucreaza in boxa aseptica , se lucreaza in vecinatatea flacarii ;
- pentru produsele ambalate, se curata suprafata ambalajului , la locul de deschidere iar flaconul de sticla se flambeaza ;
- orice instrument care este folosit pentru lucrul probei si inlaturarea ambalajului (foarfece sau bisturiu pt. taiat sfoara , pensa pt. inlaturarea capacului etc.) trebuie sa fie flambat si/sau sterilizat ;
- orice instrument care este folosit pentru insamantarea probei (pipete , etc.) trebuie sa fie sterile ;

5.4.4. TEHNICA DE LUCRU IN UROCULTURA.

PRINCIPIUL METODEI
Urocultura , in sensul uzual al termenului , reprezinta determinarea cantitativa a numarului de germeni pe ml. cu precizarea ulterioara a taxonomiei lor
Insamantarea probei trebuie efectuata cel mai tarziu la o ora dupa recoltare . In cazul in care aceasta conditie nu poate fi respectata , urina poate fi pastrata la frigider cateva ore .
Pentru realizarea uroculturii cantitative se poate aplica una din cele trei metode : o metoda de referinta ,*metoda dilutiilor in placi* , si doua metode rapide ,procedeul *ansei calibrate* si testul *uricult .*

5.4.4.1. Metoda dilutiilor :

- se efectueaza dilutii seriale 1/10 , 1/100 , din urina omogenizata in *solutie fiziologica* sterila .
- se depun cate **0,1 ml.** din fiecare dilutie pe suprafata a doua *placi Petri* cu urmatuarele medii :
- placa geloza-sange sau in lipsa geloza simpla ;
- placa AABTL sau McConkey sau Drigalski ;
- se incubeaza aerob la **37^0 C** peste noapte .

Exprimarea rezultatelor se face prin numararea germenilor din placa si calculare conform formulei :

X = N * 10 * D unde :

X = numarul de UFC / ml urina ;
N = Nr. de colonii de pe placa ;
D = factorul de dilutie (inversul dilutiei) .

Se face media numarului de germeni / ml. pentru fiecare categorie de medii si se exprima rezultatul cantitativ ***prin media cea mai mare care se obtine pe placile cu mediu*** fara

inhibitor (Metode de laborator vol.2 Ministerul Sanatatii Editura Medicala Bucuresti 1977 – pag. 102).
Cand apar discrepante intre cultura si bacterioscopie :
- se verifica daca proba nu continea substante antimicrobiene conform datelor din cererea de analiza . *Testarea prezentei substantelor antimicrobiene in proba se poate efectua prin depunerea pe suprafata placilor insamantate in panza cu Staphylococcus aureus ATCC 25.293 sau cu E. coli ATCC 25922 cate o rondela din hartie de filtru sterila impregnata prin imersie cu proba suspecta . Aparitia unei zone de inhibitie in jurul rondelelor dupa incubarea culturilor peste noapte la* ***37^0 C*** *atesta prezenta in proba a unei substante antimicrobiene.*
  - prelungeste incubarea inca **24 ore** ;
  - se solicita o noua proba de urina . *Pot fi in cauza bacterii cu exigente nutritive neoferite de mediile uzuale (de ex. Haemophillus influenzae impune urocultura pe agar-sange socolat . La pacientii sub tratament cu un antibiotic β-lactamic poate fi in cauza o infectie persistenta cu forme L . Daca polimorfismul extrem al organismelor observate pe frotiul Gram direct sugereaza aceasta posibilitate , examineaza o noua proba dupa intreruperea administrarii acestui antibiotic .*
- verifica daca nu au fost inversate probele in laborator (Tratat de microbiologie clinica . Autori: Dumitru Buiuc si Marian Negut . Editura Medicala Bucuresti 1999 – pag. 284) .

5.4.4.2. Metoda ansei calibrate

Se foloseste ansa calibrata in asa fel incat volumul incarcat de o ansa sa reprezinte **0,001 ml** aceasta realizandu-se folosind anse cu diametrul interior de **2.5 mm.**.
Inocularea se face direct din urina omogenizata pe cate un sfert de placa , pe placa cu geloza sange si mediu diferential ABTL.

Exprimarea rezultatelor : numarul germenilor / ml. este dat de numarul coloniilor dezvoltate x **1000**

5.4.4.3. Testul Uricult .
O varianta a testului este impregnarea unor bandelete de hartie sterile cu o anumita suprafata cu proba de urina din jetul mijlociu si depunerea acestora pe mediile uzuale (geloza-sange si Clead)

5.4.4.4. Interpretarea rezultatelor.
Pentru aprecierea semnificatiei clinico-patogenice a numarului de germeni sunt date urmatoarele criterii , valabile in afara uricarui tratament cu antibiotice sau cu dezinfectante urinare :
- peste 100 000 germeni / ml = bacteriurie semnificativa pt. o infectie urinara ;
- 10 000 – 100 000 germeni /ml= bacteriurie cu suspiciune de infectie urinara;
Urocultura se repeta
- 1 000 – 10 000 germeni / ml. = bacteriurie fiziologica clinic nesemnificativa ;
- sub 1 000 germeni / ml. = contaminare in special atunci cand sunt pre-zenti germeni variati (stafilococi albi , pseudodifterici etc. provenind frecvent din uretra anterioara .

O bacteriurie mai joasa de 100.000 de germeni / ml. (1.000 – 100 000) poate fi semnificativa in unele situatii ca : tratament cu antibiotice, hidratare masiva, pH < 5 sau prezenta unor germeni care se dezvolta mai greu (grup Streptococcus , etc.)
In schimb orice numar din germenii observati intr-o proba recoltata prin punctie vezicala , este clinic semnificativa .

In contrast cu alte produse patologice , prezenta unor elemente in sedimentul urinar (saruri , acizi , celule etc.) constituie un indiciu mai putin fidel si aceasta pentru motivul ca aparitia lor are loc numai dupa ce tulburarea renala a devenit manifesta . Chiar si un numar de leucocite crescut peste cel normal (1 – 2 pe camp microscopic in sediment sau 0 – 5 / mm^3 pe urina necentrifugata) este observat doar in 50 – 70 % din urinile cu peste 100.000 germeni / ml.
Pe de alta parte piuria poate fi prezenta in alte tulburari ca ***deshidratarea extrema*** *,* ***traumatisme secundare prin instrumentar*** *,* ***gastroenterite*** *,* ***infectii respiratorii.*** (Metode de laborator vol.2 Ministerul Sanatatii Editura Medicala Bucuresti 1977 – pag. 103).

TABEL
cu frecventa bacteriilor conditionat patogene implicate in ITU.
(Tratat de microbiologie clinica . Autori: Dumitru Buiuc si Marian Negut . Editura Medicala Bucuresti 1999 – pag. 273) .

Specii	Pacienti ambulatoriu %	Pacienti spitalizati %
Escherichia coli	89,2 %	52,7
Proteus mirabilis	3,2	12,7
Klebsiella pneumoniae	2,4	9,3
Enterococi	2,0	7,3
Enterobacter aerogenes	0,8	4,0
Pseudomonas aeruginosa	0,4	6,0
Proteus (indol negativ)	0,4	3,3
Serratia marcescens	< 0,1	3,3
Staphylococi coagulazo-negativi	1,6	0,7
Staphylococcus aureus	< 0,1	0,7
Corynebacterium urealyticum	..	0,32

5.4.4.5. Identificarea coloniilor izolate si comunicarea rezultatelor .
a) *in cazul izolarii unei singure specii pe placa agar-sange si care depaseste concentatia de 10^5 UFC / ml. urina .*
- In cazul in care specia este bacil Gram negativ se face confirmarea pe mediul selectiv diferential . Identificarea izolatelor semnificative clinic trebuie facuta cel putin pana la nivelul *de gen* si cand exista diferente semnificative ale sensibilitatii la antibiotice intre speciile aceluiasi gen (de ex. *Proteus sp.)* se face identificarea pana la nivel de specie . Se aleg colonii bine izolate in vederea identificarii si pentru antibiograma pe subcultura standardizata .(Tratat de microbiologie clinica . Autori: Dumitru Buiuc si Marian Negut . Editura Medicala Bucuresti 1999

– pag. 286) . In acest caz se face trecere pe mediile TSI-MIU-MILF iar identificarea este functie de carateristicile carac- terelor biochimice rezultate.
Alte specii isolate in cantitati reduse de pe o placa sau alta, sunt contaminanti : nu le comunica , nu le identifica .
La *femei* asimptomatice izolarea > 10^5 UFC bacilli coliformi / ml. proba unica din jet mijlociu are predictie pozitiva numai 0,80 ; repetarea rezultatului (cu izolarea aceleiasi bacterii) pe a 2-a proba creste aceasta predictie la 0,95 ceea ce este sufficient pentru necesitatile clinice . Repetarea rezultatului si pe a 3-a proba asigura predictie pozitiva *maximala .*
La *barbat* , contaminarea probelor curate din jetul mijlociu fiind mai putin frecventa decat la femeie , constatarea > 10^5 UFC ale unei singure specii coliforme / ml. este suficienta pentru confirmarea diagnosticului ITU .
b) - in cazul *prezentei a doua tipuri de izolate pe placa de geloza-sange ce depasesc fiecare 10^5 UFC / ml.*
In acest caz cel mai frecvent este vorba de o contaminare . Se comunica rezultatul cu comentariul :'' *posibila contaminare . Recomandam o noua proba cu respectarea riguroasa a exigentelor de prelevare si transport* Daca din a 2-a proba se izoleaza in cantitate semnificativa aceleasi bacterii , confirma semnificatia clinica a izolatelor si continua identificarea . Infectia mixta este confirmata numai la cca 10 % din pacienti pe probe de urina din jet mijlociu si la 36 % din pacientii cateterizati .

a) in cazul *izolarii mai multor specii bacteriene fiecare in concentratii de cca 10^5 UFC/ml. urina .*

In acest caz este vorba de o contaminare grosiera (nesesizata microscopic) sau o multiplicare a contaminantilor in proba nerefrigerata examinata tardiv . Comunica : ''*proba necorespunzatoare din cauza contaminarii . Recomandam examinarea unei noi probe recoltate cu respectarea normelor prescrise ''.*
b) in cazul *izolarii unei singure specii in cantitate de 10^{4-5} UFC / ml. urina .*
Se comunica semnificativ clinic si se identifica levurile cu concentratii ≥ 10^4 UFC / ml.
sistafilococii cu concentratii ≥ **5 x 10^4 UFC** / ml.

La *femei* asimtpomatice predictia pozitiva pentru ITU a bacteriuriilor de acest ordin cu bacili coliformi este infima 0,05 . Dar in prezenta simptomelor sugestive si a piuriei , predictia lor pozitiva creste . Comunica rezultatul si cere examinarea unei noi probe pentru confirmarea rezultatului prin izolarea aceleiasi specii .
La barbati a fost atestata xcorelatia puternic semnificativa intre rezultatele pe probele de aspira suprapubian si cele din jet mijlociu , chiar pentru pragul de 10^3
UFC bacili coliformi / ml.
c) - in cazul *bacteriuriei de ordinul 10^{3-4} UFC /ml sau absenta cresterea , in concordanta cu bacterioscopia directa negativa* se comunica diferentiat :

- 10^3 UFC / ml. urina . Se evita formularea '' urocultura sterila '' , care creeaza falsa impresie a unui examen exhaustiv prin care infectia este eliminata . In realitate urocultura cantitativa uzuala nu detecteaza mai putin de 10^{-3} UFC / ml. , iar STAMM si colab. (1982) au demonstrata ca la femei piurice sindromul uretral acut non-gonococic si non-chlamidial este determinat de cistite cu bacili coliformi , chiar cand bacteriuria este de numai ≥ 10^2 UFC /

ml. De aici necesitatea unor noi uroculturi cu insamantarea cantitativa si a probei nediluate Reizolarea aceluiasi bacil coliform , de regula *E. coli* in concentratii ≥ 10^{2} UFC / ml. in doua uroculturi succesive confirma ipoteza clinica .

- 10^{3-4} UFC / ml. urina . Cand cresterea este aparent pura cu un coliform , la o pacienta cu sindrom uretral si piurie , continua identificarea , precizeaza semnificatia posibila a rezultatului si recomanda examinarea unei noi probe pentru confruntare . Bacilii corineformi , neisseriile nepretentioase , stafilococii izolati in concentratii de acest rang sunt contaminanti . Recomandam atentie când din probe de urina de la gravide se izoleaza colonii *corineforme* cu colonii *discret hemolitice .* Pot fi *Listeria monocytogenes ,* care are semnificatie clinica pentru prevenirea *listeriozei fetale* (Tratat de microbiologie clinica . Autori: Dumitru Buiuc si Marian Negut . Editura Medicala Bucuresti 1999 – pag. 286 - 287) .

5.4.4.6. Examenul bacteriologic al urinii pentru depistarea unor patogeni specifici

a) Izolarea Candida albicans in urocultura .

Candida albicans determina uretrocistite la diabeticii necontrolati metabolic. In urina poate ajunge prin contaminarea probei din sfera genitala (uretrite specifice) . Insamantarea probei se poate face prin una din cele trei metode (cap. 10.1.) pe mediul Sabouraud iar confirmarea speciei se poate face cu ajutorul trusei AUXACOLOR. sau examen microscopic direct prin coloratie vitala sau albastru metilen.

5.5. MASURI PREVENTIVE LA PRELUCRAREA PROBELOR

5.5.1. Protectia personalului.

- Obligatorie purtarea halatului
- Folosirea lampei de U.V. (inainte si dupa insamantare)
- Folosirea hotei de insamantare
- Pipetele sunt prevazute cu dop de vata nehidrofila pentru a preveni aspirarea accidentala a esantionului
- Flambarea ansei se face intai la baza flacarii si apoi la varf pentru a impiedica raspandirea germenilor
- Dezinfectia suprafetelor de lucru cu solutii dezinfectante

5.5.2. Protectia mijloacelor de incercare si / sau masurare

- Sticlaria sterila se pastreaza in dulapuri speciale
- Sticlaria sterila se foloseste maxim 6 zile
- Executarea periodica a serviciilor de intretinere si curatire zilnica a aparaturii
- Verificarea si inregistrarea temperaturii din incaperea de lucru

5.5.3. Verificarea starii de functionare si confirmarea metrologica a mijloacelor de masurare.

- Verificarea de doua ori pe zi a temperaturii termostatelor
- Teste privind efectuarea corecta a sterilizarii :

-fizico-chimice

- Controlul indirect al sterilizarii – controlul sterilitatii materialelor de laborator
- Termostatarea 24-48 de ore a mediilor de cultura gata pregatite
- Tulpinile de referinta pentru medii de cultura din ziua respectiva

5.5.3. Executantul lucrarii.

- Verifica functionarea mijloacelor de incercare si/sau masurare.
- Executa incercarile conform regulilor de procedura si standarde.
- Inregistreaza rezultatele intermediare, calculele si rezultatele finale in caietul sau.
- Comunica orice defectiune intervenita la mijloacele de incercare si/sau masurarea si observatiile cu privire la comportarea probei de analizat.

6. RESPONSABILITATI

6.1. Seful de laborator

- ✓ Primeste comanda, contractul sau oferta pentru determinari.
- ✓ Nominalizeaza responsabilul de incercari.
- ✓ Informeaza in scris factorii respunzatori atunci cand se constata neconformitati, solicitand remedieri.

6.2 Responsabilul de incercare

- ✓ Inregistreaza proba in registrul de evidenta a analizei.
- ✓ Valideaza rezultatul incercarii si il inregsitreaza.
- ✓ Confirma rezultatele incercarii, prin semnarea si stampilarea buletinului de analiza.

6.2 Executantul lucrarii

- ✓ Verifica functionarea mijloacelor de incercare si/sau masurare.
- ✓ Executa incercarile conform regulilor de procedura si standarde.
- ✓ Inregistreaza rezultatele intermediare, calculele si rezultatele finale in caietul său.

Comunica orice defectiune intervenita la mijloacele de incercare si/sau masurarea si observatiile cu privire la comportarea probei de analizat.

7. MOD DE INREGISTRARE SI PREZENTARE A REZULTATELOR.

7.1. Registre de evidenta a analizelor

Registrele de evidenta a analizelor contin :
Numarul buletin analiza
Denumirea probei
Data recoltarii
Ora recoltarii
Punctul de recoltare

Conditii de recoltare
Cine a efectuat recoltarea
Analiza solicitata
Rezultatele analizelor microbiologice
Data eliberarii buletinului de analiza
Cine a lucrat proba .

Acest mod de inregistrare asigura inregistrarea si confidentialitatea datelor si durata de pastrare in laborator.

7.2. Inregistrarile asistentului medical de laborator.

- Inregistrarile asistentului sunt :
- Temperatura camerei de insamantare
- Data recoltarii
- Detalii privind identificarea esantionului
- Analizele microbiologice cerute si dilutiile folosite
- Observatii asupra modului de recoltare a probelor .

7.3 Inregistrarile responsabilului de analiza.

Inregistrarile responsabilului de analiza sunt :

- Data citirii probelor
- Denumirea probei / tipul de analiza
- Data recoltarii probelor respective

Nr. de inregistrare a fiecarei probe citite si activitatile depuse in continuare in cazul suspiciunii probei pozitive
Inregistreaza probele pozitive , eventual mentioneaza observatiile sale asupra probelor .

7.4. Inregistrarea si consemnarea datelor

Dupa completarea registrului de evidenta a probelor se trece la intocmirea buletinului de analiza ce contine rezultatul analizei, confirmat prin semnatura medicului si / sau a biologului responsabil de analiza .

Buletinul de analiza este intocmit de responsabilul de sector si este validat de medicul sef de laborator.

Eliberarea rezultatului se face pe baza de semnatura a persoanei care se prezinta pentru ridicarea buletinului de analiza.

7.5. Buletinul de analiza

Trebuie sa indice metoda utilizata, rezultatul obtinut si modul in care este exprimat. De asemenea, trebuie mentionate toate detaliile de lucru care nu au fost prevazute in prezentul

Standard International , precum si eventualele incidente susceptibile de a fi influentat rezultatele finale.
Buletinul de analiza trebuie sa ofere toate informatiile necesare identificarii complete a esantionului.

7.6. ÎNREGISTRÃRI DOCUMENTE.

- Registru de evidentã a determinãrilor
- Caietul executantului
- Registrul responsabilului de analiza

Spitalul Clinic de Boli Infecţioase"Sf.Parascheva„ Iaşi
Laboratorul de analize medicale
Str.Octav Botez Nr 2

PROCEDURA SPECIFICĂ

COPROCULTURA
(Examen Microscopic, Cultura, Identificare Bacteriana)

Cod: PSL – 09

LABORATORUL DE ANALIZE MEDICALE

STANDARD DE REFERINTA: SR EN ISO15189: 2007

EDITIA: 1
REVIZIA: 0
Data: 01.03.2011

DIFUZAT IN REGIM CONTROLAT: EXEMPLAR Nr.

DESTINATAR :…….

APROBAT	VERIFICAT
Manager	Manager Calitate
Prof.Dr. Carmen Dorobăţ	Dr. Diana Matei

Elaborat:

Manager Tehnic	Şef Compartiment Laborator Microbiologie II
Dr. Rodica Fântânaru	Dr. Rodica Fântânaru

Data aprobarii : 01.03.2011
Data aplicarii : 15.03.2011

Avertisment : Documentul de fata este proprietatea **Spitalul Clinic de Boli Infecţioase"Sf.Parascheva„ Iaşi** - Laborator de analize medicale.
Reproducerea si difuzarea documentului sunt in exclusivitate dreptul societatii. Copiile sunt numerotate si controlate.

LISTA DE DIFUZARE / RETRAGERE

Locul difuzării	Primit				Retras			
	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură
R. C	0.	01.03. 2011	Dr. Diana Matei					
Manager General	1.	01.03. 2011	Prof.Dr. Carmen Dorobăţ					
Manager Tehnic		01.03. 2011	Dr. Rodica Fântânaru					
R. C	2.	01.03. 2011	Dr. Diana Matei					
Sef compartiment Microbiologie I	3.	01.03. 2011	Conf. Dr. Olivia Dorneanu					
RENAR	4.	01.03.2011	Ing. Cristian Nichita					

INDICATORUL REVIZIILOR

Nr. Crt	Data	Editia/ revizia	Identificari modificare Capitol, subcapitol, pagina modificata, continut modificari	Functia si semnatura		
				Elaborat	Verificat	Aprobat
1	01.03. 2011	Ed. 1/ Rev. 0/	Elaborat PSL -0, in editia 1, revizia 0	Manager Tehnic Dr. Rodica Fântânaru Şef Compartiment Laborator Microbiologie II Dr. Rodica Fântânaru	Managerul Calitatii Dr. Diana Matei	Manager Prof.Dr. Carmen Dorobăţ

1. SCOP ŞI DOMENIU DE APLICARE

Procedura descrie activităţile şi etapele, din Compartimentul de Microbiologie 02 (produse patologice din situusuri normal contaminate) privind prelucrarea MF în scopul stabilirii diagnosticului etiologic în sindromul diareic acut şi în TIA.
Procedura se aplică în cadrul Compartimentul de Microbiologie 02 al Laboratorului

2. DOCUMENTE DE REFERINŢĂ

2.1. Manualul Calităţii Laboratorului, cod MCL-01,
2.2. SR EN ISO/CEI: 15189: 2007 - Laboratoare medicale. Cerinţe particulare pentru calitate şi competenţă
2.3. SR EN ISO/TR 22869 - Laboratoare medicale. Ghid pentru implementarea în laboratoare a ISO 15189 : 2003
2.4. SR EN ISO 15190 : 2005 - Laboratoare medicale. Cerinţe pentru securitate.
2.5. IC-03 Controlul de calitate în microbiologie
2.6. Ministerul Sănătăţii – Academia de Ştiinţe Medicale – Metode curente pentru analize de laborator clinic, Ed. medicală, Bucureşti, 1982
2.7. D. Buiuc, M. Neguţ, *Tratat de microbiologie medicală*, Editura Medicală, Bucureşti, 1999
2.8. *Microbiologie clinică* vol I, Ed. Didactică şi Pedagogică, RA Bucureşti 1998, D. Buiuc
2.9. *Metode de laborator vol II*, Academia de ştiinţe medicale, Comisia de Standardizare, Ed. Medicală, Bucureşti 1997
2.10. Manualul de recoltare a produselor biologice, cod:PGL – 5.4-1;
2.11. *Parazitologie medicală,* Ed. ALL, Bucureşti 1994, S.Rădulescu, A.Meyer
2.12. *Baze clinice pentru practica medicală vol IV,* Ed. Medicală, Bucureşti Prof.Dr.Doc. A.Păunescu-Podeanu
2.13. Metodologia anuală de supraveghere şi control a bolii diareice acute (BDA) şi holerei pentru sezonul iunie-noiembrie – Autoritatea de Sănătate Publică
2.14. D.Buiuc, M.Neguţ, *Tratat de microbiologie medicală*, Editura Medicală, Bucureşti, 2008

3.DEFINIŢII ŞI ABREVIERI

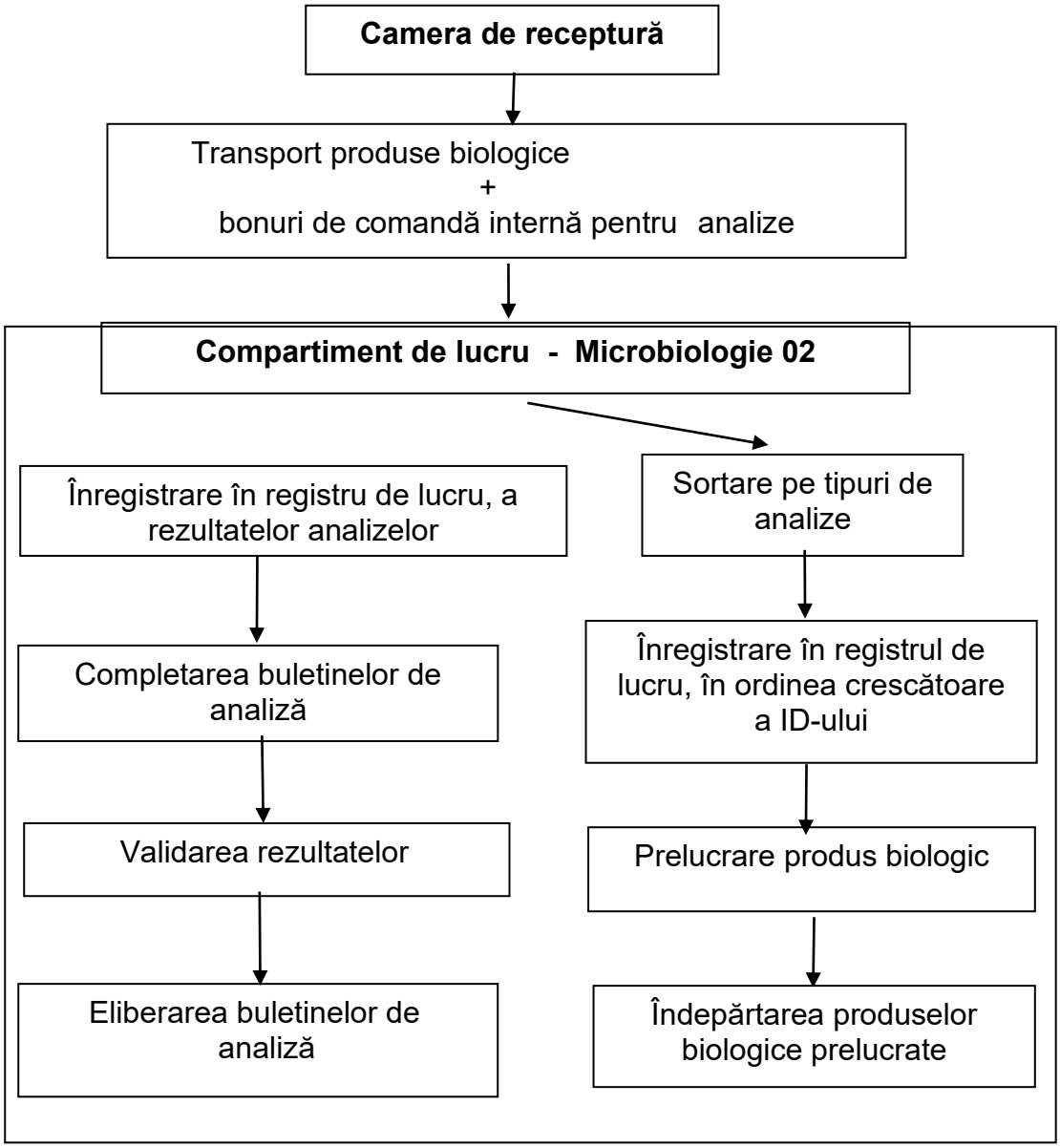
3.1. Coprocultură: examen microbiologic al materiilor fecale
3.2. Antibiograma: test de laborator care evidenţiază rezistenţa sau sensibilitatea unui germen patogen (bacterie) la diferite antibiotice.
3.3 Izolare bacteriană: cultivarea bacteriilor pe medii de cultură agarizate prin epuizarea inoculului cu ansa
3.4. Primocultură: izolarea bacteriilor din prelevatele patologice
3.5. Cultură pură: cultură formată din descendenţii unei singure colonii rezultate după o epuizare a materialului microbian, care duce la creştere sub forma coloniilor bine izolate pe medii agarizate 3.6. Medii de cultură selective: conţin substanţe care inhibă dezvoltarea bacteriilor de contaminare a prelevatelor; pentru izolarea enterobacteriaceelor din prelevate contaminate există medii cu trei niveluri de selectivitate: slab selective care inhibă bacteriile Gram pozitive , moderat selective care inhibă pe lîngă bacteriile Gram pozitive şi o parte din bacilii Gram negativi comensali şi înalt selective care inhibă o gamă mai largă de bacterii comensale
3.7. Medii de îmbogăţire: medii de cultură lichide care prin anumite substanţe inhibitoare, prelungesc faza de lag a bacteriilor de contaminare, fără a întârzia însă intrarea unor patogeni în faza exponenţială.

3.8. Medii diferenţiale: conţin substratul pentru o anumită enzimă bacteriană şi un indicator care atestă atacarea acestui substrat
3.9. Teste biochimice de identificare: teste care se efectuează pe medii speciale de identificare ce conţin anumiţi indicatori şi un substrat , care permit recunoaşterea unei bacterii pe baza activităţii sale biochimice şi identificarea preliminară a acesteia
3.10. Teste serologice (antigenice) de identificare: teste care se efectuează prin reacţii de aglutinare pe lamă sau latex aglutinare ce permit identificarea cu certitudine a unei specii bacteriene

3.2 Abrevieri:
UFC: Unităţi formatoare de colonii
ATCC: American Type Culture Collection
TSI: Triple Sugar Iron (glucoză, zaharoză, lactoză) – mediu de identificare multitest
ADCL: Agar deoxicolat citrat lactoză – mediu moderat selectiv de izolare a Enterobacteriaceelor
MC: Agar Mc Conkey – mediu slab selectiv de izolare a Enterobacteriaceelor
MC-sorb: Agar Mc Conkey cu sorbitol – mediu diferenţial pentru EHEC
AABTL: Agar albastru bromtimol lactoză – mediu diferenţial
WB: Mediul Wilson- Blair – mediu înalt selectiv izolare Salmonella typhi
CIN-Ye: Mediu selectiv de izolare Yersinia
TCBS : Mediu Taurocolat citrat bilă sucroză – mediu înalt selectiv de izolare Vibrio
BSA: Mediu Bilă sare agar – mediu moderat selectiv de izolare Vibrio
AP: Apă peptonată
AP-alc: Apă peptonată alcalină - mediu de îmbogăţire Vibrio
MK: Mediu Karmalli – mediu selectiv Campylobacter
AS: Mediu Agar sânge – mediu nutritiv
TIA: Toxiinfecţie alimentară
EPEC: Enteropatogen Escherichia coli
EHEC: Enterohemoragic Escherichia coli
LA: Latex aglutinare
SF: Ser fiziologic
AD: Apă distilată
MF: Materii fecale
BDA: Boală diareică acută
UV: Ultraviolete

4. DESCRIEREA ACTIVITĂŢII

Activitatea din cursul dimineţii începe prin examinarea culturilor bacteriene dezvoltate în ultimele 24-48 ore, repicarea coloniilor suspecte pe medii de identificare, interpretarea caracterelor biochimice şi identificarea caracterelor antigenice prin aglutinări pe lamă sau latexaglutinare a tulpinilor identificate, examinarea şi interpretarea antibiogramelor efectuate, toate datele fiind consemnate în registrul de lucru.
După recepţionarea şi transportul produselor biologice la compartimentul de lucru, activitatea se desfăşoară conform schemei I:



4.1.RESURSE NECESARE

4.1.a. Echipamente şi materiale de laborator

- autoclav
- termostat la 37°C şi 42°C
- etuvă
- microscop optic
- hotă cu flux laminar
- frigider(vitrină frigorifică)
- balanţă tehnică
- lampă cu UV
- pH-metru
- bec de gaz Bunsen
- scală nefelometrică McFarland
- lupă
- lame de microscop portobiect şi lamele
- cristalizor

- anse şi fir de însămânţare
- coprocultoare cu linguriţă colectoare şi capac înfiletat
- cutii Petri
- hârtie de filtru
- eprubete 10/10 şi 12/12
- pense
- sticluţe de 8ml
- pipete automate
- vârfuri pipete automate
- psipete/pipete Pasteur
- stative eprubete
- jar de 2,5 l pentru incubare în condiţii speciale
- containere pentru colectarea materialelor contaminate incinerabile
- soluţii dezinfectante (soluţie clorinată şi amestec sulfocromic)
- recipiente pentru soluţii dezinfectante
- medii de cultură
- seruri de aglutinare pe lamă
- truse latex aglutinare
- truse pentru coloraţia Gram şi Ziehl Neelsen cu safranină
- soluţie Lugol
- coloranţi: albastru metilen şi verde malachit
- plicuri pentru incubare microaerofilă (Capygen) şi pentru anaerobioză
- reactivi adiţionali (reactiv Covaci şi reactiv Clorură ferică)
- discuri (benzi/ soluţie) pentru reacţia oxidazei
- perhidrol
- discuri pentru antibiogramă
- ser fiziologic
- ulei de cedru
- ulei de parafină
- parafină solidă

4.1.b. Materiale de referinţă

- tulpini de referinţă ATCC

Salmonella enterica ATCC 51812 TM
Shigella flexner ATCC 12022 TM
Yersinia enterocolitica ATCC 9610
Campylobacter jejuni ATCC 33291
E. Coli O157 H7 nontoxigenic strain NCTC 12900C 1967 l

4.1.c. RESURSE UMANE

- un medic
- un asistent de laborator
- un laborant

Măsuri de protecţie a personalului:
toate produsele biologice trebuie considerate potenţial infecţioase şi sunt recoltate şi manipulate conform regulilor de bioprotecţie detaliate în procedura operaţională POL – 01.

4.2. PRODUSUL BIOLOGIC DE ANALIZAT : materiile fecale
Conform tabelului 1, conform procedurii specifice cod: PSL -11.

Probele de MF sunt recoltate şi transportate la Laborator conform procedurii operaţionale PO-06, „Manualul de recoltare a produselor biologice” în intervalul orar 7^{30}-11^{00}; probele de MF prelevate în afara programului normal de lucru sunt depozitate în frigiderul de gardă (4-8°C), sunt recepţionate, înregistrate şi procesate la contravizită (dacă sunt aduse până la ora de începere a contravizitei), respectiv a doua zi dimineaţa (probe prelevate după încheierea programului de contravizită)
Modul de recepţionare, înregistrare şi transport al produselor biologice în Laborator se desfăşoară în conformitate cu PGL- 5.4-1.

Criteriile pentru respingerea probei biologice sunt:
- recipient inadecvat
- lipsa mediului de transport
- cantitate insuficientă de produs biologic
- lipsa datelor de identificare de pe recipient
- lipsa formularului de solicitare

4.3. OPERAŢIUNI PREGĂTITOARE

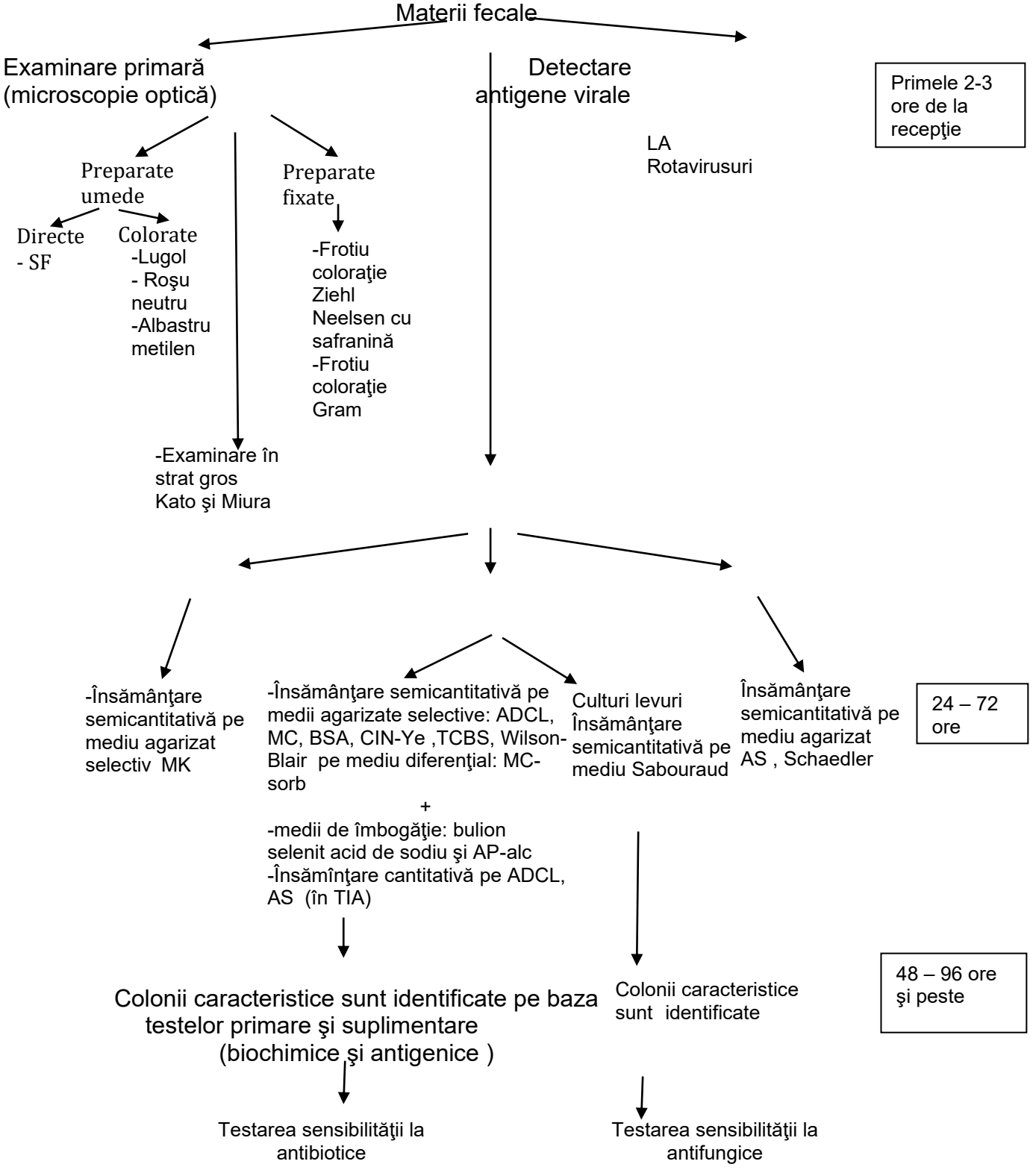
Mediile de cultură, coloranţii sunt preparaţi conform instrucţiunilor de preparare, de către laborant sau înlocuitorul său asistentul de laborator în camera de preparare , sunt turnate în plăci Petri şi recipiente, în boxa de turnare medii , apoi sunt depozitate în vitrine frigorifice, conform IL- ??? ,

Sticlăria reciclabilă (eprubete, sticluţe, flacoane etc.) este pregătită pentru utilizare de către laborant sau înlocuitorul său asistentul de laborator conform IL- ???,
„Analiza microbiologică a materiilor fecale”
Materialele (plăci şi flacoane cu medii de cultură preparate) cât şi sticlăria (eprubete, sticluţe) sterilizate şi pregătite pentru utilizare, sunt aduse într-o cantitate estimată pentru 2-3 zile, de către asistentul de laborator ce deserveşte compartimentul de lucru , fiind depozitate în frigider (mediile de cultură) fie în cutii cu capac (eprubete, sticluţe, lame etc.).
Zilnic un număr estimat de plăci cu medii se pun la uscat în termostat înainte de utilizare şi se repartizează câte 2-3 ml mediu de îmbogăţire bulion selenit acid de sodiu, într-un număr estimat de sticluţe sterilizate.

4.4. ETAPELE ANALIZEI MICROBIOLOGICE

Etapele analizei microbiologice se desfăşoară conform schemei II

Schema II


Materii fecale
Examinare primară (microscopie optică)
Detectare antigene virale
Primele 2-3 ore de la recepţie
Preparate umede
Directe - SF
Colorate -Lugol - Roşu neutru -Albastru metilen
Preparate fixate
-Frotiu coloraţie Ziehl Neelsen cu safranină -Frotiu coloraţie Gram
LA Rotavirusuri
-Examinare în strat gros Kato şi Miura
-Însămânţare semicantitativă pe mediu agarizat selectiv MK
-Însămânţare semicantitativă pe medii agarizate selective: ADCL, MC, BSA, CIN-Ye ,TCBS, Wilson-Blair pe mediu diferenţial: MC-sorb
+
-medii de îmbogăţie: bulion selenit acid de sodiu şi AP-alc
-Însămînţare cantitativă pe ADCL, AS (în TIA)
Culturi levuri Însămânţare semicantitativă pe mediu Sabouraud
Însămânţare semicantitativă pe mediu agarizat AS , Schaedler
24 – 72 ore
Colonii caracteristice sunt identificate pe baza testelor primare şi suplimentare (biochimice şi antigenice)
Colonii caracteristice sunt identificate
48 – 96 ore şi peste
Testarea sensibilităţii la antibiotice
Testarea sensibilităţii la antifungice
Cultivare (coprocultură) (Izolare)
Microaerofilă
Aerobă
Anaerobă
(Însămâţare pe medii de cultură adecvate fiecărei grupe)

Etapele examenului microbiologic sunt:
Etapa I în primele 24 ore:
- Examenul microscopic al MF
- Însămânţarea MF pe medii de cultură agarizate şi medii de cultură lichide de îmbogăţire, adecvate categoriei bacteriene, urmată de incubare 15-24 ore;
- Examenul virusologic al MF;

Etapa II după 15-24 ore
- Examinarea culturilor dezvoltate şi repicarea coloniilor suspecte pe bateria minimală de teste biochimice (TSI, mediul cu manită şi un sector de mediu diferenţial AABTL/Drigalski) urmată de incubare 15-24 ore;
- Efectuarea testelor primare -examinarea microscopică a unora din culturile bacteriene (frotiu colorat Gram), testul catalazei ,oxidazei şi coagulazei pentru alte culturi bacteriene;
- Reexaminarea primoculturilor, la 48 ore şi eventuale repicări a coloniilor suspecte dezvoltate tardiv;

Etapa III după 42-72 de ore
- Efectuarea testelor de identificare antigenică (aglutinare pe lamă, latex aglutinări);
- Repicarea coloniilor suspecte pe baterie lărgită de teste biochimice (apă peptonată pentru reacţia indolului, mediu cu lizină şi martor lizină, mediul cu fenilalanină, mediul Simons cu citrat, pe lângă TSI, mediul cu manită şi un sector de mediu diferenţial AABTL/Drigalski, iar pentru alte culturi bacteriene mediul agar cu esculină şi sector de AS) dacă bateria minimală nu a fost concludentă, şi se purifică culturile mixte;

- Efectuarea antibiogramei sau antifungigramei urmată de incubare 24 ore;
- Reexaminarea primoculturilor bacteriene la 72 ore şi eventuale repicări a coloniilor suspecte dezvoltate tardiv;
- Comunicarea rezultatelor examinării microbiologice a MF, prin întocmirea şi tipărirea buletinul de analiză, cod FGL – 5.8-01.

Etapa IV după 72-96 ore şi uneori mai mult
- Comunicarea antibiogramei sau antifungigramei;
- Stocarea culturilor bacteriene patogene şi înalt patogene în epru-bete cu agar de stocaj urmată de incubarea lor 24 ore şi parafinarea eprubetelor.

4.4.1. EXAMENUL MICROSCOPIC:

- Precede obligatoriu coprocultura
- Include examinarea de preparate umede şi/sau fixate, având ca scop vizualizarea citologiei respectiv prezenţa sau absenţa recţiei inflamatorii cu sau fără prezenţa hematiilor cât şi a elementelor parazitare (trofozoiţi, chişti, ouă şi larve), a dominanţei fungilor şi prezenţa în exces a unor produşi de digestie (amidon, fibre musculare , mucus etc.)
- Examenul microscopic se realizează în conformitate cu instrucţiunile de lucru, cod IL- ??? „ Analiza microbiologică a materiilor fecale"

4.4.2. COPROCULTURA BACTERIANĂ:
- Coprocultura urmăreşte izolarea şi identificarea bacteriilor patoge-ne şi înalt patogene pe baza caracteristicilor: morfologice , de cultivabilitate, exoenzimatice şi antigenice , implicate în BDAşi TIA

- Însămânţarea se face din proba ca atare recoltată în coprocultor cu mediu de transport Cary Blair, vizând porţiunile lichide şi îndeosebi cele mucoase şi/sau sangvinolente; volumul recoltei trebuie să fie minimum 3-5 mg;
- Mediile de cultură utilizate pentru izolare şi identificare bacteriană, cât şi condiţiile de incubare sunt specifice ficărei categorii bacteriene;
- Inocularea mediilor de cultură se realizează cu ansa, din MF omogenizate în mediul de transport, iar dispersarea inoculului se realizează în 3 grupe de striuri parţial suprapuse, fără flambarea ansei între grupele de striuri; din mediile de îmbogăţire, după o agitare prealabilă a eprubetelor, se procedează la fel; -
Repicarea coloniilor suspecte se realizează cu firul de însămânţare, care va fi încălzit la roşu, la începutul şi sfârşitul fiecărei repicări;
- Specia bacteriană urmărită (uzual *Shigella, Salmonella*) este indicată de medicul specialist pe formularul de solicitare analize FGL- 4.4 -???,; în afara solicitării medicale se urmăresc şi alte specii bacteriene , dacă examenul citologic evidenţiază prezenţa mai ales în număr mare a leucocitelor ± hematiilor (EPEC la nou-născut şi copilul mic, EHEC O:157 H:7, Campylobacter), dacă proba de materii fecale este lichidă ca apa de orez se urmăresc în sezonul cald şi *Vbrio cholerae* / *parahaemolyticus*, *Aeromonas hydrophila* / *sobria* , *Plesiomonas shigelloides* etc. efectuându-se însămânţări pe medii de cultură adecvate;
- Identificarea caracterelor exoenzimatice şi antigenice a bacteriilor se fac în conformitate cu instrucţiunile de lucru, cod IL- ???/ „ Analiza microbiologică a materiilor fecale” iar execuţia antibiogramei pentru bacteriile cu semnificaţie clinică, în conformitate cu instrucţiunile de lucru, cod IL- ???„ Antibiograma şi antifungigrama”
- Bacteriile patogene şi înalt patogene izolate şi identificate pe baza testelor biochimice şi antigenice sunt testate pentru sensibilitatea şi rezistenţa la antibiotice (Antibiograma), stocate în eprubete cu mediu agarizat de transport, parafinate şi expediate la Institutul „I. Cantacuzino”-Bucureşti, pentru confirmarea identităţii şi tipare bacteriană;

4.4.3. COPROCULTURA ÎN TIA

4.4.3.1 Examinarea micologică

- Se realizează la indicaţia medicului specialist formulată pe formularul de solicitare analize cod, FGL – 4.4 -03 sau când examenul microscopic depistează prezenţa levurilor în cantitate mare şi dominanţa lor în comparaţie cu flora microbiană fecaloidă diminuată uneori până la dispariţie;
- Se utilizează mediul Sabouraud cu sau fără inhibitori pentru bacteriile aerobe din materiile fecale;
- Însămânţarea MF este identică ca la coprocultura bacteriană, identificarea se realizează prin testul filamentării sau identificare pe galerii API iar antifungigrama în conformitate cu instrucţiunile de lucru, cod IL- ???? „ Antibiograma şi antifungigrama” ;

4.4.3.2 Examinarea virologică

- Se realizează pentru Rotavirusuri, la indicaţia medicului specialist formulată pe formularul de solicitare analize cod, FGL – 4.4-03 , iar în sezonul rece la toţi copii cu vârsta cuprinsă între 0 şi 3 ani;
- Rotavirusurile se identifică prin latex aglutinare ,iar procedura de lucru este în conformitate cu instrucţiunile producătorului kitului;

5. RESPONSABILITĂŢI

5.1 MANAGERUL TEHNIC:

♦ Verifică şi aprobă prin semnătură şi parafează buletinul de analiză, cod FGL- 5.8-01
♦ Oferă consultanţă beneficiarului în legătură cu rezultatul analizei, dacă acesta solicită.
♦ Execută analizele pentru care este responsabil şi validează
rezultatul acestora prin semnătură şi parafă

5.2 RESPONSABILUL DE ANALIZĂ

- Verifică solicitarea medicului specialist de pe formularul de solicitare analize de uz intern, cod FGL – 4.4-03,
- Verifică înregistrările asistentului de laborator ce deserveşte compartimentul 02, din registrul de lucru cod:RGL-4.4- 01 şi din registrul de comenzi interne, cod RGL- 4.4 -01, registrul de comenzi externe cod:RG-4.4-01, şi registrul de comenzi respinse cod:RGL-4.4-01.
- Examinează preparatele de microscopie optică şi culturile bacteriene dezvoltate pe mediile de cultură, execută repicările, aglutinările pe lamă şi latex aglutinările, interpretează caracterele exoenzimatice dezvoltate de bacterii şi a aglutinărilor pe lamă, respectiv a latexaglutinărilor, decide asupra testelor pe care le execută asistentul de laborator şi formulează diagnosticul de laborator în registrul de lucru , cod: RGL 4.4-01,
- Întocmeşte şi tipăreşte buletinul de analiză, cod FGL -5.8-01;
- Verifică, semnează şi parafează buletinul de analiză, cod FGL-5.8-01 şi îl prezintă managerului tehnic spre aprobare

5.3 ASISTENTUL DE LABORATOR

- Preia coprocultoarele cu probe biologice concomitent cu formularele de solicitare analize de la
- registratorul medical din camera de receptură şi de la asistentul medical de la cabinetul de
- recoltare ;
- Înregistrează probele biologice cu toate datele din formularele de solicitare analize, inclusiv ID-ul probelor în registrul de lucru , cod RGL- 4.4-01
- Transportă mediile de cultură şi sticlăria pregătite pentru utilizare, în compartimentul de lucru şi pregăteşte mediile de cultură pentru însămânţare
- Efectuează însămânţarea produselor biologice pe medii de cultură, pregăteşte preparatele pentru microscopie optică, efectuează unele teste de laborator indicate de medic
- Transmite buletinul de analiză, cod: FGL- 5.8-01, registratorului medical respectiv asistentului medical de la cabinetul de recoltare

6. ÎNREGISTRĂRI ŞI ANEXE

6.1. ÎNREGISTRĂRI

Registru de lucru, cod RGL- 4.4- 01,
Formularul de solicitare analize medicale de uz intern FGL-4.4-03;

Spitalul Clinic de Boli Infecţioase"Sf.Parascheva„ Iaşi
Laboratorul de analize medicale
Str.Octav Botez Nr 2

PROCEDURA SPECIFICĂ

EXAMENUL PARAZITOLOGIC

Cod: PSL - 10

LABORATORULUI DE ANALIZE MEDICALE

STANDARD DE REFERINTA: SR EN ISO15189: 2007

EDITIA: 1
REVIZIA: 0
Data: 01.03.2011

DIFUZAT IN REGIM CONTROLAT: EXEMPLAR Nr.

DESTINATAR :…….

APROBAT	**VERIFICAT**
Manager	**Manager Calitate**
Prof.Dr. Carmen Dorobăţ	**Dr. Diana Matei**

Elaborat:

Manager Tehnic	**Şef Compartiment Laborator Microbiologie II**
Dr. Rodica Fântânaru	**Dr. Rodica Fântânaru**

Data aprobarii : 01.03.2011
Data aplicarii : 15.03.2011

Avertisment : Documentul de fata este proprietatea **Spitalul Clinic de Boli Infecţioase"Sf.Parascheva„ Iaşi** - Laborator de analize medicale.
Reproducerea si difuzarea documentului sunt in exclusivitate dreptul societatii. Copiile sunt numerotate si controlate.

LISTA DE DIFUZARE / RETRAGERE

Locul difuzării	Primit				Retras			
	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură
R. C	0.	01.03. 2011	Dr. Diana Matei					
Manager General	1.	01.03. 2011	Prof.Dr. Carmen Dorobăţ					
Manager Tehnic		01.03. 2011	Dr. Rodica Fântânaru					
R. C	2.	01.03. 2011	Dr. Diana Matei					
Sef compartiment Microbiologie I	3.	01.03. 2011	Conf. Dr. Olivia Dorneanu					
RENAR	4.	01.03.2011	Ing. Cristian Nichita					

INDICATORUL REVIZIILOR

Nr. Crt	Data	Editia/ revizia	Identificari modificare Capitol, subcapitol, pagina modificata, continut modificari	Functia si semnatura		
				Elaborat	Verificat	Aprobat
1	01.03. 2011	Ed. 1/ Rev. 0/	Elaborat PSL -08, in editia 1, revizia 0	Manager Tehnic Dr. Rodica Fântânaru Şef Compartiment Laborator Microbiologie II Dr. Rodica Fântânaru	Managerul Calitatii Dr. Diana Matei	Manager Prof.Dr. Carmen Dorobăţ

1. SCOP

Obiectivul acestui document este de a furniza un ghid de identificare preliminara a paraziţilor prezenţi in produsele biologice.
Scopul acestei proceduri este de a prezenta modul de organizare si desfasurare a etapelor examenului parazitologic in conformitate cu cerintele impuse de normele de calitate in vigoare, in vederea demonstrării competentei laboratorului nostru

2. SEMNIFICATIE CLINICA

Gravitatea bolii produse de parazit este conditionata atat de virulenta acestuia, de intensitatea infestarii cat si de capacitatea de aparare a gazdei. Din interactiunea dintre mecanismele de agresiune, respectiv de aparare ale celor doua categorii de organisme pot aparea fie stari asimptomatice, la asa numitii purtatori sanatosi, fie manifestari clinice minore, la organisme imunocompetente, fie forme foarte grave de boala, la organisme imunoincompetente.

Putem intalni urmatoarele situatii in care examenul coproparazitologic este recomandat:

- tulburari gastro-intestinale (inapetenta, greata, voma, eructatii, flatulenta, dureri abdominale, diaree cu sau fara sange)
- simptome neurologice (iritabilitate, insomnie, cefalee, ameteala, crize convulsive) si alergice (prurit anal, nazal) precum si simptomatologie generala (astenie, stagnare pondero-staturala la copii, scadere ponderala uneori marcata la adulti, subfebrilitate, hipertensiune arteriala).

In etiologia acestora, trebuie avuti in vedere urmatorii paraziti:

- Giardia intestinalis
- Ascaris lumbricoides
- Enterobius vermicularis
- Trichuris trichiura
- Taenia solium si T. saginata
- Hymenolepis nana si H. diminuta
- Strongiloides stercoralis, etc

3. TERMENI SI DEFINITII

PROTOZOARELE-sunt organisme eucariote,care fac parte din regnul animal, in care fiecare unitate celulara indeplineste toate functiile necesare vietii.
AMIBELE-sunt protozoare care se deplaseaza cu ajutorul pseudopodelor citoplasmatice, proiectate si retractate, ca raspuns la stimuli externi. Toate
amibele au un stadiu de trofozoid, in care are loc multiplicarea lor prin diviziune binara, atata timp cat conditiile de mediu sunt favorabile, si un stadiu de chist, care este mult mai rezistent la conditiile
HELMINTII-sunt viermi paraziti ce cuprind doua increngaturi :

- Plathelminti (viermii plati)

Plathelmintii - sunt organisme cu simetrie bilaterala, cu corpul turtit si lipsit de cavitate generala. Tubul digestiv este fie incomplet, fie inexistent.Majoritatea speciilor sunt hermafrodite. Plathelmintii sunt grupati in doua clase : hematode si cestode .

Nemathelmintii-sunt organisme cu corpul alungit si cilindric, nesegmentat, cu extremitatile ascutite sau rotunjite. Nemathelmintii sunt impartiti in 3 clase, importanta medicala prezentand numai clasa : Nematode ,cu urmatoarele grupe :

-Trichinelidae (Trichiuris)

-Oxiurides (Enterobius)
-Ascaroides (Ascaris)
-Trichostrongyloides (Tricostrongilus)
-Rabditoides (Strongyloides)

Nemathelminti (viermii cilindrici)
nefavorabile si care ofera posibilitatea transferului de la o gazda la alta.

4. PRINCIPIUL METODEI

Parazitii localizati in intestin pot fi evidentiati prin examinarea unui preparat nativ efectuat din scaun sau a unui frotiu colorat.

Deoarece unii paraziti sunt eliminati intermitent sau in numar fluctuant, examinarea unei singure probe de scaun nu este suficienta pentru a detecta toti parazitii existenti. Testarea a 3 probe colectate la interval de 5-7 zile va imbunatatii substantial rezultatul.

5. MASURI DE SIGURANTA

5.1 Protectia personalului

- Purtarea pe tot timpul activitatii a halatului de protectie curat, corect incheiat si legat.
- Echipamentul de protectie se lasa la locul de lucru ori de cate ori se deplaseaza in alte zone de activitate (in afara laboratorului).
- Se spala mainile dupa orice manipulare de material infectios si inainte de a parasi aria de lucru.
- Se protejeaza sub pansament hidrofug orice solutie de continuitate de pe tegumentul expus (zgarieturi, taieturi).
- Se eticheteaza cu insemnul riscului biologic probele care vin de pacientii cu hepatita sau SIDA.
- La locul de lucru nu se introduc in gura pixuri, creioane, degete, alimente, bauturi, tigari.
- Nu se utilizeaza sticlarie ciobita sau fisurata.
- Se manipuleaza cu grija substantele chimice.
- Dezinfecteaza suprafetele de lucru la terminarea activitatii si dupa orice varsare de produs infectios sau ori de cate ori se suspecteaza o contaminare accidentala.
- Semnalarea sefului de laborator a oricarei infectii intercurente – poate fi o infectie profesionala.
- Se efectueaza controlul medical periodic.
- Se asigura accesul controlat al persoanelor straine in laborator.
- Se respecta instructiunile privind eliminarea deseurilor infectioase.

5.2 Protectia echipamentelor

- Se verifica periodic lupa binoculara si microscopul.
- Se verifica permanent termenul de valabilitate al reactivilor,etc.
- Se verifica periodic starea tehnica a aparatului de sterilizare(autoclav).

5.3 Reactivi si alte Substante

Reactivi

- Solutie Lugol
-Solutie Lugol dublu

-Iod metaloid 1g
-Iodura de potasiu 2g
-Apa distilata 100ml

In cazul in care iodul nu se dizolva bine in solutia initiala foarte concentrata de iodura de potasiu se adauga o foarte mica cantitate de alcool.

- Ser fiziologic
- Solutie suprasaturata de clorura de sodiu (40%)
- Amestec sulfocromic pentru lame :

-bicromat de potasiu 50g
-acid sulfuric tehnic concentrat 500ml
-apa distilata 450ml

- Amestec sulfocromic pentru pipete :

-bicromat de potasiu 50g
-acid sulfuric tehnic concentrat 150ml
-apa distilata 1000ml

5.4 Echipamente si Resurse

Denumirea echipametului, tip	Producator	Seria	Personal autorizat pentru exploatare	Contract service (perioada verificarii)	Perioada etalonarii
Microscop binocular			da		-
Frigider pentru pastrarea si conservarea reactivilor					
Coprorecoltoare					

5.5 Probe Biologice Primare

5.5.1 Recoltare

Pentru recoltare se folosesc coprocultoare din material plastic de unica intrebuintare. Cele mai multe izolari se obtin din scaunul proaspat, emis spontan. Cu ajutorul linguritei sau tijei coprocultorului se preleva portiuni din scaun cu mucus si eventual urme de sange, iar cand acestea lipsesc se recolteaza boluri din 2-3 locuri diferite. Cantitatea necesara este de 10-15 g, iar daca scaunul este lichid recoltorul trebuie umplut pe jumatate.

Proba se eticheteaza si se completeaza fisa cu examenul cerut.
La bolnavii cronici, purtatori, persoane spitalizate, scaunul va fi provocat printr-un purgativ salin Deoarece in emisia chistilor de Giardia intervin perioade negative, analiza coproparazitologica se repeta de minimum 3 ori, la interval de 5-7 zile.

5.5.2Transport

Prelevatele de materii fecale destinate examenelor parazitologice se transporta la laborator in cel mai scurt timp (2 ore de la prelevare) in coprorecoltoare fara mediu de transport.

5.5.3 Inregistrare probe

Probele se inregistraeza in registrul de analize cod : RGL-5.4.-01 cu urmatoarele date :

- Numar unic de inregistrare : cel de pe eticheta recoltorului
- Date despre pacient(nume , prenume, sex, varsta, CNP, adresa, telefon), date clinice privid tratamentul cu medicamente, dieta
- Date despre medicul clinician (nume, prenume, telefon), in vederea comunicarii ;

- Data si ora de recoltare, locul recoltarii si persoana care a efectuat recoltarea ;
- Produsul biologic ;
- Acceptarea sau neacceptarea comenzii cu motivatia neacceptarii ;
- Analizele solicitate

- Declaratia pacientului care delega o alta persoana pentru ridicarea buletinului.

Se va nota ora la care ajuns proba in laborator, pentru probele recoltate inafara laboratoruluiMateriile fecale vor fi supuse examenului direct atat macroscopic cat si microscopic.

a) Examenului macroscopic se face direct in recipientul in care s-a prelevat proba, cu ochiul liber sau cu lupa de mana, ajutandu-ne cu o bagheta de sticla sau cu o ansa. Se noteaza :
-culoarea :de la galben deschis la brun si negru
-consistenta : -F -scaun format, pastreaza forma intestinului
-SF-scaun semiformat, se turteste in vas
-M -scaun moale, curge in vas
-D -scaun diareic, apos
-pH-ul : se ia cu o hartie de turnesol ce poate arata o reactie acida, alcalina, sau amfotera
-prezenta de elemente patologice ca : mucus, puroi, sange, e.t.c.

6. PROCEDURA DE LUCRU

5.1 Examenul microscopic direct in solutie Lugol.

Se examineaza intre lama si lamela o cantitate mica de materii fecale,prelevata din diferite parti ale scaunului, amestecata in Lugol(1 picatura).Solutia de Lugol coloreaza membrana chistilor si detaliile de structura interna.Coloreaza de asemeni amidonul in diferite culori in functie de stadiul de digestie.
Preparatul se examineaza cat mai repede,deoarece odata uscat devine imposibil de citit. Se folosesc lamele de 20/20 mm astfel incat marginile lor sa fie cuprinse in marginile lamelei.

Examinarea se face cu obiectiv 10X iar identificarea fiecarui element parazitar se face cu obiectiv 40X.

Stratul care se examimeaza nu trebuie sa fie prea gros pentru a nu provoca opacifierea campului microscopic.
Prin aceasta metoda chistii de protozoare se coloreaza in galben brun si prezinta detalii de structura accentuate.Trofozoizii de protozoare sunt omorati si in lipsa miscarilor caracteristice sunt greu de identificat. Ouale de helminti apar colorate in brun roscat intens,cu detalii de structura accentuate. Larvele de Strongyloides stercoralis sunt marite, drepte cu detalii de structura foarte nete.

6.2 Examenul microscopic direct cu ser fiziologic.

Suspensia de materii fecale se face in ser fiziologic care pastreaza viabilitatea trofozoizilor de protozoare sau a larvelor de helminti,precum si culoarea naturala a elementelor parazitare.
Pe o lama se pune o picatura de ser fiziologic. Cu ajutorul unei anse metalice sau a unei baghete se preleva o mica cantitate din proba de examinat si se amesteca pe lama cu o picatura de ser fiziologic.Se acopera cu o lamela.
Se examineaza cat mai repede posibil, pentru ca preparatul odata uscat,devine imposibil de examinat.
Suspensia trebuie sa fie uniforma iar lamela asezata orizontal, nu inclinata.
Se examinata cu obiectivul 10X iar identificarea fiecarui element se face cu obiectivul 40X.

In preparatul direct se poate decela si identifica orice element parazitar,cu conditia ca intensitatea parazitara a probei sa fie suficienta.Metoda este universala , are indicatii speciale pentru decelarea trofozoizilor de protozoare vii care au miscari caracteristice.
Chisti de protozoare apar foarte refringenti, decelandu-se cu usurinta, in schimb nu prezinta detalii de structura asa cum prezinta in solutia Lugol.
Ouale de helminti prezinta toate detaliile de structura si culoarea reala. In ouale embrionate, ca cele de tenie, himenolepis, oxiuri cu larva, se observa miscarile periodice ale larvei sau embrionului.
Larvele rabditoide de Strongyloides stercoralis prezinta miscari vioaie si se deplaseaza repede sub lamela.

6.2.1 CARACTERE DE IDENTIFICARE

GIARDIOZA

Trofozoit

Chist

Agentul patogen al giardiozei (lambliaza) este protozoarul Giardia lamblia (Giardia intestinalis, Lamblia intestinalis).
Examenul coproparazitologic consta in identificarea chisturilor de Giardia duodenalis in scaunele formate si a trofozoizilor in scaunele diareice, prin examen microscopic direct in ser fiziologic sau solutie Lugol.
Trofozoidul are:

- ☞ Aspect piriform cu dimensiuni intre 10-12µ si 5-7µ (aspect de para taiata longitudinal), fata plata reprezentand suprafata ventrala.
- ☞ Are 2 nuclei situati in regiunea anterioara si 4 perechi de flageli care pornesc din corpusculii bazali, grupati in tetrade intre cei doi nuclei. In jumatatea posterioara a parazitului se afla corpusculul median (forma de virgula).
- ☞ Chistul este ovoid sau elipsoid cu o lungime de 7-10µ , un perete gros de 0,3-0,6nm si contine doi sau patru nuclei situati de obicei la extremitati.
- ☞ Flagelii se vad ca structuri lineare alaturi de corpusculul median.

Deoarece parazitul se elimina intermitent se recomanda repetarea examenului coproparazitologic timp de 4-5 saptamani la interval de 7 zile.

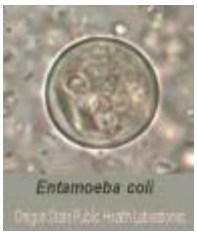
AMIBIAZA

Agentul patogen care produce amibiaza este Entamoeba histolytica (Entamoeba dizenteriae) care produce infectii asimtomatice sau simtomatice (dizenteria ambiana, colita nedizenteriforma, amibomul, ambioza intestinala complicata, colita postamibiana).

Caracteristici:

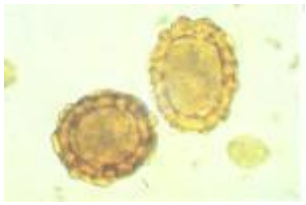
- ☞ Scaunele tipice de dizenterie amibiana sunt lichide sau semiformate si constau din exudat, mucus si sange, si o cantitate mica de materii fecale. Proba trebuie examinata la microscop imediat in solutie salina pentru a surprinde trofozoizii hematofagi mobili. Daca examinarea nu se face imediat, proba se poate pastra cateva ore la +4ºC. Sunt necesare de obicei 4-6 probe de scaun, recoltate la intervale de 7-10 zile.
- ☞ In scaunele formate pot fi evidentiate chisturile printr-un examen microscopic direct in ser fiziologic sau cu solutie Lugol.
- ☞ Trofozoidul are un corp deformabil, contur neregulat. Emite pseudopode in toate directiile. Contine o endoplasma cu o structura fin granulara si o ectoplasma clara. Endoplasma contine bacterii si eritrocite (in special in scaunele dizenterice). Nucleul este sferic inconjurat de o membrana nucleara.
- ☞ In centrul nucleului se gaseste un singur cariozom inconjurat de un halou clar.
- ☞ Formele ,,minuta''sunt mai mici au 15-20µ iar formele,,magna'' ajung pana la 30-40µ.
- ☞ Chistul are o citoplasma granulara si contine 4 nuclei. Dimensiunile variaza intre 5-20µ.

ENTAMOEBA COLI.



- ☞ Trofozoidul necolorat masoara 20-30µ are o endoplasma granulara cu vacuole care contin adesea bacterii si material granular. Pseudopodele sunt scurte si tesite.
- ☞ Nucleul este vizibil de obicei ca un inel de granule retractile. Diferenta dintre trafozoidul de Entamoeba hystolitica si Entamoeba coli consta in : trofozoidul de Entamoeba coli se misca lent, emitand pseudopode scurte, granulare, contine bacterii nu contine hematii, iar nucleul este vizibil pe preparate necolorate.
- ☞ Chistul este sferic sau ovoid cu dimensiuni intre 10-33µ , si este mai mare decat chistul de Entamoeba histolitica.Contine in general 8 nuclei (rar 16 sau 32) inconjurati de o masa de glicogen.El poate genera tulburari dispeptice.
- ☞ Poate fi un indicator al unui grad crescut de contaminare a alimentelor cu materii fecale.

ASCARIOZA.



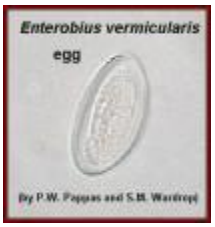
Examenul pune in evidenta parazitul adult, larvele sau ouale in materii fecale prin examen microscopic direct in ser fiziologic sau Lugol sau folosind metoda de concentrare Willis-Hung.

- ☞ Adultul de Ascaris lumbricoides, este cel mai mare nematod care paraziteaza intestinul uman. Este alungit, cilindric, cu extremitati conice, extremitatea anterioara fiind mai atenuata. Femela este mai mare masurand : 20-25cm lungime, 5-7mm grosime ; si are ambele extremitati drepte. Masculul este mai mic masurand : 10-17cm lungime,2-4mm grosime; iar extremitatea posterioara se curbeaza ventral.

- ☞ Oul fecundat este sferic sau usor ovalar, masurand : 65-75µ lungime si 30-50µ grosime avand urmatoarea structura: la exterior are un invelis albuminos mamelonat servind de membrana protectoare auxiliara. Sub el se gaseste un strat incolor, relativ gros, neted apoi o membrana interna subtire impermeabila. Aceste membrane adapostesc in interior celula ou, rotunda care nu umple complet oul, lasand un spatiu liber la extremitate.

- ☞ Ouale nefertile (in lipsa masculului) sunt mai alungite masurand : 88-93µ lungime si 38-40µ grosime, interiorul continand o masa dezorganizata de granule ce umplu complet oul. Ouale au culoarea galben-bruna.

OXIURAZA (ENTEROBIOZA).



Agentul patogen enterobius vermicularis (oxiurius vermicularis) este:

- ☞ un nematod mic, alb-galbui cu extremitatea anterioara inconjurata de o expansiune cuticulara,realizand o formatiune veziculara numita « buton cefalic » care are rolul de a fixa parazitul de mucoasa intestinala.

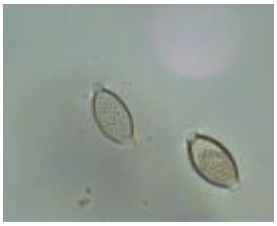
- ☞ Femela are dimensiuni de :8-13mm lungime si 0,3-1,5mm grosime ,iar extremitatea posterioara este subtire si ascutita.

- ☞ Masculul este mai mic are dimensiuni de 3-5mm lungime si extremitatea posterioara curbata anterior.

- ☞ Ouale au forma ovalara, asimetrica cu o latura plana si una convexa cu dimensiuni de:50-55µ lungime si 30-32µ grosime . Ouale sunt transparente, cu un invelis subtire, dublu. Cele doua membrane se intalnesc la unul din poli. In interior au un embrion ovoid care are o prelungire ca o coada.

Diagnosticul consta in evidentierea parazitului adult si a oualelor. Femela poate apare si in scaunele diareice sau dupa administrarea terapiei antihelmintice.
Ouale pot fi evidentiate prin metoda amprentei anale luata pe banda adeziva care poate determina la un prim examen mai mult de jumatate din cazuri.
Dupa patru examinari se surprind majoritatea cazurilor.

TRICOCEFALOZA (TRICHUROZA)



Examenul consta in evidentierea oualelor de Trichuris Trichiura prin examen microscopic pe lama.

- ☞ Ouale sunt ovoidale cu doua proieminente polare care le da o infatisare de lamaie. Au urmatoarele dimensiuni : 50-55µ lungime si 22-25µ grosime. Coaja oului este foarte groasa si bruna. Proieminentele polare sunt albuminoase si apar ca niste dopuri care infunda orificiile circulare de la extremitatile polare ale cojii chitinoase.

STRONGILOIDOZA

Agentul patogen este Strongyloides stercoralis.

- ☞ In materiile fecale larvele se pot decela prin examen microscopic direct, care pune in evidenta mai frecvent larvele rabditoide si mai rar larve strongiloide.
- ☞ Larvele rabditoide sunt mici, masurand : 250µ lungime si 15µ grosime. Ele au o capsula bucala scurta si un esofag alcatuit din doua parti : partea anterioara alungita, cilindrica este separata printr-o strangulatie de partea posterioara care are un aspect bulbar (esofag rabditoid).
- ☞ Larvele strongiloide, filariforme, sunt subtiri masurand 500µ. Esofagul lor este foarte lung, uniform calibrat ocupand aproape jumatate din lungimea larvei. Larvele filariforme sunt mobile, deosebit de agile.

TENIAZE.

Examenul coproparazitologic consta in examinarea materiilor fecale si a parazitilor (proglote + scolexul) eliminati odata cu materiile fecale sau independent.
Proglotele de tenie gasite in scaun se vor spala in solutie salina fiziologica, apoi se vor plasa intre doua lame microscopice, care sunt separate la extremitati prin doua bucati de carton.
Examinarea proglotelor de tenie :

- ☞ Preparatul se va fixa apoi cu doua benzi de cauciuc la cele doua capete pentru ca proglotul sa ramana orizontal. In acest fel ramurile uterine vor devenii vizibile la examinarea microscopica.
- ☞ Scolexul de Tenia solium este globulos are patru ventuze puternice si un rostrum retractil prevazut cu o coroana dubla de carlige (aproximativ 25-30) .
- ☞ Proglotele sunt diferite in functie de varsta ; astfel cele tinere (mai apropiate de scolex) sunt mai late decat lungi, iar cele mature sunt patrate. Proglotele ovigere (batrane) care se elimina, sunt mai lungi decat late, astfel latimea este cuprinsa in lungime de 2,5-3 ori. Uterul gravid ocupa cea mai mare parte a proglotului oviger, prezinta ramificatii dendritice de obicei 9 (maxim 13) de fiecare parte. Proglotele se elimina una cate una sau inlantuite si numai odata cu scaunul fecal.
- ☞ In proglotul oviger se pot gasi oua , aproximativ 800000.
- ☞ Ouale sunt sferice, cu diametrul de 30-40µ, au un perete gros cu striatii radiare, ar in interior se afla un embrion hexacant (cu sase carlige) ,,onchosfera''
- ☞ Ouale ajung in scaun numai daca se sparg proglotele. De aceea examenul coproparazitologic se va repeta de cateva ori folosind tehnica de concentrare Willis-Hung.
- ☞ Se poate folosi si tehnica amprentei anale (metoda benzii adezive) deoarece s-a constatat ca o parte din oua raman in pliurile mucoasei anale.
- ☞ Tenia saginata are scolexul mai mare decat cel al teniei solium. Este prevazut cu patru ventuze fara rostrum cu carlige. Proglotele prezinta miscari active (au musculatura puternica) astfel incat se elimina individual si intre scaune.
- ☞ Proglotele ovigere sunt mai lungi ca la Tenia solium, latimea lor fiind cuprinsa in lungime de aproximativ 5 ori. Uterul are ramificatii dicotomice, de obicei mai mult de 18, si contin un numar mare de oua (100 000)ce nu pot fi deosebite de cele ale Teniei solium.
- ☞ Ouale au un diametru de 30-40µ si contin un embrion de hexacant. Eliminarea lor nu depinde neaparat de dezintegrarea proglotului, ci are loc din primele momente de dupa desprinderea de strobil. Prin marginea anterioara proglotului, adiacent strobilului iese un lichid laptos plin cu oua.
- ☞ Ouale se evidentiaza in materiile fecale prin examen microscopic direct si prin tehnica de concentrare Willis-Hung.

Diagnosticul diferentiat intre Tenia saginata si Tenia solium :

- La Tenia solium :

-eliminarea proglotelor are loc numai odata cu scaunul fecal, cate una sau in lanturi de cateva proglote.

-proglotele eliminate sunt de 2,5-3 ori mai lungi decat late.

-prin transparenta se pot vedea ramificatiile uterine dendutice in medie cele 9 de fiecare parte .

- La Tenia saginata :

-eliminarea proglotelor se face activ si intre scaune.

-proglotele sunt de 5 ori mai lungi decat late.

-prin transparenta se observa uterul care se ramifica dichotomic (ramificatii secundare), avand de obicei mai mult de 18 ramificatii.

Ouale de Tenia solium nu se pot diferentia de ouale de Tenia saginata.

HYMENOLEPIDOZA.

Agentul etiologic este Hymenolepis nana, Hymenolepis diminuta.
In materiile fecale se evidentiaza ouale prin examene microscopice directe sau prin probe de concentrare

☞ Ouale,usor ovalare sau rotunjite sunt embrionate continand un embrion (onchosfera) hexacant cuprins intr-o masa gelatinoasa delimitata de o membrana subtire. In doua zone diametral opuse pe aceasta membrana se formeaza doua mici excrescente din care emerg cate un manunchi format din cate 4-8 elemente filamentoase. La exterior exista o a doua membrana subtire. Dimensiunile oului variaza intre 30-50µ in diametru.

Deoarece trasmiterea si simtomatologia este in mare masura asemanatoare cu cea produsa de Enterobius vermicularis se recomanda sa se faca concomitent si un examen pentru aceasta infectie.

☞ Ouale de Hymenolepis diminuta sunt embrionate, mai mari decat cele de Hymenolepis nana ; au diametrul de 70-80µ, de cele mai multe ori sunt sferice si fara structurile filamentoase polare intalnite la ouale de Hymenolepis nana.
Ele nu sunt infectante pentru om.

☞ Ouale de Hymenolepis diminuta pot fi evidentiate in scaunul fecal prin examene directe microscopice.

DIPHYLOBOTRIOZA (BOTRIOCEFALOZA)

Evidentierea oualelor de Diphylobotrium in materiile fecale prin examen microscopic direct se face relativ usor datorita numarului mare de oua eliminate in mod constant.

☞ Ouale sunt ovalare cu dimensiuni de 70/40µ si au o culoare bruna. La un pol au un capacel (opercul) iar la extremitatea opusa un pinten(carena). In interior se gaseste zigotul. Ouale nu sunt embrionate la eliminare, embrionarea producandu-se numai in mediul acvatic.

- ☞ Proglotele sunt dreptunghilare cu o lungime de 2-4 mm si o latime de 10-12 mm. Fiecare proglot contine organe reproducatoare de ambele sexe. Uterul nu are ramificatii laterale si comunica cu exteriorul printr-un orificiu numit tocostom.

Proglotele distale, dupa ce au golit tot continutul uterin se dezintegreaza in lumenul intestinal. Numai ocazional se detecteaza proglote evacuate in fecale.

7. EXPRIMARE REZULTATE

Rezultatul examenului coproparazitologic trebuie sa mentioneze prezenta parazitului (adult , oua, chisturi, larve) cat si abundenta lui. Pentru protozoare rezultatul trebuie sa precizeze specia, genul si stadiul sau evolutiv (forma vegetativa, chistica) ca si tehnica de identificare (direct, concentrare).

7.1 ELIMINAREA DESEURILOR

Dupa incheierea procesului analitic, probele care nu mai sunt necesare analizei se indeparteaza in conformitate cu reglementarile privind gestionarea deseurilor medicale.
Gestionarea deseurilor medicale se realizeaza conform procedurii operationale POL-01 : «Norme de curatenie, dezinfectia si eliminarea deseurilor infectioase »

8. RAPORTARE REZULTATE

8.1 Validarea rezultatelor

Specialistii din laborator care efectueaza analize sunt responsabili pentru validarea analitica a rezultatelor prin: respecatrea procedurilor de lucru, efectuarea controlului intern de calitate, introducerea datelor in sistemul informatizat al laboratorului. Buletinele de analiza sunt semnate si parafate de catre responsabilii cu efectuarea analizelor din compartimentele functionale ale laboratorului.
Verificarea si autorizarea buletinului de analiza intra in responsabilitatea medicului sef de laborator. In aceasta etapa seful de laborator are autoritatea si responsabilitatea sa verifice sistematic rezultatele analizelor

8.2 Editarea rezultatelor

Rezultatele analizelor se comunica clientilor prin intermediul buletinelor de analiza. Formatul buletinelor este astfel proiectat incat sa se poata adapta diferitelor tipuri de analize efectuate si sa inlature posibilitatea de neintelegere sau utilizare gresita. Se realizeaza de catre personalul laboratorului care are responsabilitati in acest sens prin fisa postului.

8.3 Comunicarea rezultatelor

Buletinele se inmaneaza de regula direct clientului sau delegatului acestuia cu respectarea cerintelor de asigurare a confidentialitatii, de catre personalul de la sectorul de receptie.
La solicitarea expresa a pacientului, rezultatele se inmaneaza altei persoane desemnata de acesta, dupa identificarea prealabila. Clientul sau delegatul acestuia semneaza la primirea buletinului in Registrul de eliberare buletine /rezultate, cod RGL-5.8-01.
Transmiterea rezultatelor se accepta a se realiza si prin telefon, fax sau e-mail dupa identificarea prealabila a solocitantului (nume , prenume, adresa , CNP) urmarindu-se limitarea acestui tip de transmitere a rezultatelor**.**
In situatia in care valorile rezultatelor se afla intr-o zona critica, de alarma, managementul laboratorului procedeaza la comunicari ocazionale cu clinicienii prin telefon, fax sau e-mail, astfel incat rezultatele sa ajunga cu maxima operativitate la utilizatori. Se pastreaza inregistrari ale comunicarilor realizate ca si rezultatele analizei. Buletinele de analiza sunt pastrate la

sediul laboratorului timp de 7 zile dupa care cele neridicate sunt transmise clinicienilor care au efectuat trimiterea.

8.4 Valori biologice de referinta

Valorile biologice de referinta sunt inscrise in buletinul de analiza pentru fiecare parametru in parte, softul avand posibilitatea ca in functie de varsta, sex sa selecteze valoarea biologica de referinta corespunzatoare

9. RESPONSABILITATI

Seful de laborator

- Primeste comanda, contractul sau oferta pentru determinari.
- Nominalizeaza responsabilul de analiza.
- Informeaza in scris factorii respunzatori atunci cand se constata neconformitati, solicitand remedieri.
- Valideaza rezultatul analizei.

Responsabilul de analiza

- Executa si supravegheaza analiza conform procedurii specifice.
- Elibereaza rezultatul si il inregistreaza.
- Supervizeaza analizele executate de asistenti.
- Verifica periodic executantii de analiza.
- Confirma rezultatele analizei, prin semnarea si stampilarea buletinului de analiza.

Executantul analiza

- Inregistreaza proba in registrul de evidenta a analizei.
- Verifica functionarea mijloacelor de incercare si/sau masurare.
- Executa analizele conform regulilor de procedura si standarde.
- Inregistreaza rezultatele intermediare, calculele si rezultatele finale in caietul de lucru.

Comunica orice defectiune intervenita la mijloacele de incercare si/sau masurarea si observatiile cu privire la comportarea probei de analizat.

10. INREGISTRARI

Inregistrarile care fac obiectul acestei proceduri sunt :

- Listele de lucru zilnice

Condica zilnica de laborator

Documente de referinta

- Parazitologie medicala. Simona Radulescu Ed.ALL Educational 2000. pg. 27-33;50-63;68-70;97-102;215-218;271-274;300-305;308;323-327

Spitalul Clinic de Boli Infecţioase"Sf.Parascheva„ Iaşi
Laboratorul de analize medicale
Str.Octav Botez Nr 2

PROCEDURA SPECIFICĂ

EXAMEN LICHID DE PUNCTIE

Cod PSL – 13

A LABORATORULUI DE ANALIZE MEDICALE

STANDARD DE REFERINTA: SR EN ISO 15189: 2007

EDITIA: 1
REVIZIA: 0
Data: 01.03.2011

DIFUZAT IN REGIM CONTROLAT: EXEMPLAR Nr.

DESTINATAR :…….

APROBAT	**VERIFICAT**
Manager	**Manager Calitate**
Prof.Dr. Carmen Dorobăţ	**Dr. Diana Matei**

Elaborat:

Manager Tehnic	**Şef Compartiment Laborator**
Dr. Rodica Fântânaru	**????**

Data aprobarii : 01.03.2011
Data aplicarii : 15.03.2011

Avertisment : Documentul de fata este proprietatea **Spitalul Clinic de Boli Infecţioase"Sf.Parascheva„ Iaşi** - Laborator de analize medicale.
Reproducerea si difuzarea documentului sunt in exclusivitate dreptul societatii. Copiile sunt numerotate si controlate.

LISTA DE DIFUZARE / RETRAGERE

Locul difuzării	Primit				Retras			
	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură	Nr. ex.	Data	Nume	Semnătură
R. C	0.	01.03. 2011	Dr. Diana Matei					
Manager General	1.	01.03. 2011	Prof.Dr. Carmen Dorobăţ					
Manager Tehnic		01.03. 2011	Dr. Rodica Fântânaru					
R. C	2.	01.03. 2011	Dr. Diana Matei					
Şef Compartiment Laborator	3.	01.03. 2011	????					
RENAR	4.	01.03.2011	Ing. Cristian Nichita					

INDICATORUL REVIZIILOR

Nr. Crt	Data	Editia/ revizia	Identificari modificare Capitol, subcapitol, pagina modificata, continut modificari	Functia si semnatura		
				Elaborat	Verificat	Aprobat
1	01.03. 2011	Ed. 1/ Rev. 0/	Elaborat PSL -07, in editia 1, revizia 0	Manager Tehnic Dr. Rodica Fântânaru Şef Compartiment Laborator ????	Managerul Calitatii Dr. Diana Matei	Manager Prof.Dr. Carmen Dorobăţ

1. SCOP ŞI DOMENIU DE APLICARE

Procedura descrie activităţile şi etapele privind prelucrarea lichidelor de puncţie(lichidul cefalorahidian, pleural, pericardic, articular si peritoneal)în scopul stabilirii diagnosticului etiologic in meningo-encefalite,artrite,pleurezii,pericardite si peritonite.
Procedura se aplică in cadrul Compartimentului de Microbiologie 01 din Laboratorul de Analize Medicale al Spitalului Clinic de Boli Infecţioase „Sf.Parascheva" Iaşi.

2.DOCUMENTE DE REFERINŢĂ

2.1. Manualul Calităţii Laboratorului,cod MCL-01,Ed 1,Rev0/01.03.2011
2.2. SR EN ISO/CEI: 15189: 2007-Laboratoare medicale.Cerinţe particulare pentru calitate şi competenţă.
2.3 SR EN ISO/TR 22869-Laboratoare medicale.Ghid pentru implementarea in laboratoare a ISO 15189:2003
2.4 SR EN ISO 15190 :2005-Laboratoare medicale.Cerinţe pentru securitate.
2.5 IC-03 Controlul de calitate in microbiologie
2.6 Microbiologie clinică vol I,Ed. Didactică şi Pedagogică,RA Bucureşti 1998,D.Buiuc
2.7.Manualul de recoltare a probelor biologice,codPO-06,Ed.1,Rev.0/.....
2.8. Microbiologie medicală-Ghid pentru studiul şi practica medicinei,Ed.Gr T Popa Iasi 2003
2.9 D.Buiuc, M.Neguţ,Tratat de microbiologie medicală,Editura Medicală,Bucureşti,2008
2.10. Metode de laborator de uz curent,Editura Medicala,Bucuresti,1977

3.DEFINIŢII ŞI ABREVIERI

3.1.Lichid cefalorahidian:produs biologic/patologic obţinut prin rahicenteză,uzual lombară sau puncţie ventriculară,in conditii aseptice.Se recoltează de către clinician,la patul bolnavului,de preferat inainte de administrarea antibioticelor.

3.2.Exsudatele si transudatele cavităţilor inchise reprezintă reacţia de tip inflamator sau neinflamator a seroaselor respective faţă de anumiţi excitanţi,care duce la acumularea de lichid între membrana viscerală si parietală a cavităţilor pleurale,peritoneale,pericardice si articulare.Pentru diagnosticul diferenţial între exsudat si transudat se utilizează determinarea cantităţii de proteine din lichid,considerând că o valoare a proteinelor totale sub 3 g/dl indică un transudat,iar peste 3g/dl indica un exsudat.

Procesele inflamatorii de la nivelul seroaselor au etiologie diversă:infecţii locale,traumatisme infectate sau reprezintă o localizare a unei boli generale de tip septicemic.
În mod normal sunt sterile ,dar pot fi infectate de:bacterii aerobe si anaerobe,Mycobacterium tuberculosis,fungi si paraziţi.

3.2 Abrevieri:

AS: mediu agar cu 5 % sânge
BCC:bulion cord creier
LA: latex aglutinare
LCR:lichid cefalorahidian
LPl:lichid pleural
LA:lichid de ascită
LPe:lichid pericardic

4. DESCRIEREA ACTIVITĂŢII

4.1 Resurse necesare

4.1. Aparatură şi materiale de laborator

- autoclav tip??? Seria ???
- etuvă tip??? Seria ???
- termostat tip??? Seria ???
- microscop optic tip??? Seria ???
- hotă cu flux laminar, tip??? Seria ???
-frigider
-balanţă tehnică, tip??? Seria ???
-ph-metru, tip??? Seria ???
-lampă cu ultraviolete tip??? Seria ???
- bec de gaz Bunsen
- platina incalzita
- centrifuga, tip??? Seria ???
- densimat/scală nefelometrică Mc Farland tip??? Seria ???
- tampoane de exsudat
- cutii Petri
- medii de cultură
- discuri pentru antibiogramă
-anse
-pense
- pipete automate de 50-200 microlitri tip??? Seria ???
- vârfuri albastre şi galbene sterile pentru pipete automate
- camera de numarat Fuchs-Rosenthal
- stative eprubete
- eprubete10/10
- cristalizor
- soluţii dezinfectante
- recipiente pentru soluţii dezinfectante
- lupă, tip??? Seria ???
- lame de microscop, lamele
- truse pentru coloraţia Gram
- coloranţi:albastru de metilen N ????
- trusa de coloratie May-Grunwald-Giemsa
- trusa de latexaglutinare pentru meningite
- perhidrol N ???
- ser fiziologic
- ulei de cedru
- ulei de parafină
- containere pentru colectarea materialelor contaminate incinerabile
- hârtie de filtru

4.1.1 Materiale de referinţă

-tulpini de referinţă ATCC:

4.1.2. Resurse umane
-un medic
-un asistent de laborator
-un laborant

Măsuri de protecţie a personalului
Recoltarea şi manipularea produselor biologice se fac conform regulilor de protecţie descrise in procedura operaţională POL-01

4.2 Produsul biologic de analizat:Lichidul cefalorahidian/lichide de punctie

Lichidul cefalorahidian se recoltează de către clinician la patul bolnavului,in volum de 5-10 ml,repartizat in 2-3 eprubete sterile.Tuburile recoltate se etichetează la patul bolnavului şi sunt trimise la laborator împreună cu cererea de analiză,ce trebuie sa cuprindă:nume si prenume,vârsta,diagnostic şi dacă pacientul este sub tratament cu antibiotice.Proba se transportă imediat si fără refrigerare la laborator.
Celelalte lichide de puncţie se recoltează prin puncţie cu seringa in condiţii de asepsie,fiind necesari 10-15 ml în cazul lichidelor pleurale si peritoneale si 4-5 ml pentru cele articulare.Transportul trebuie făcut in cel mult o ora.

4.3. Operaţiuni pregătitoare

4.3.1. Pregătirea materialelor de laborator

Mediile de cultură, coloranţii se prepară de către laborant sau asistentul de laborator, se toarnă în plăci Petri şi recipiente şi apoi sunt depozitate în vitrine frigorifice.

Sticlăria reciclabilă (eprubete, sticluţe, flacoane) este pregatită pentru utilizare de către laborant sau asistentul de laborator.

Asistentul de laborator aduce în compartimentul de lucru plăcile cu medii de cultură şi sticlăria sterilizată estimată a se utiliza 2-3 zile şi se păstrează în frigider plăcile cu medii de cultură şi în cutii cu capac eprubetele,sticluţele şi lamele.
Orarul de primire a probelor este între orele 8-15.

4.3.2. Depozitarea probelor biologice în afara programului normal de lucru se face in termostatul de gardă.

4.4. Procesarea produsului biologic

Asistentul care deserveşte compartimentul de microbiologie 1 preia recipientele cu LCR/lichide de punctie şi formularele de solicitare analize,apoi le înregistrează în registrul de lucru.

Etapele examenului microbiologic sunt:

Prima zi:

a) 4.4.1 Examenul macroscopic.

Se apreciază:
- transparenţa:clar/opalescent/tulbure/purulent;
- culoarea:incolor/hemoragic(defect de puncţie,hemoragie meningeană sau meningită bacteriana cu lichid hemoragic)/xantocrom;
- fluiditatea:probele purulente sunt vâscoase;unele pot coagula sau prezintă numai văl de fibrină.
- trebuie evitată coagularea lichidelor de puncţie,prin adăugarea unei cantiaăţi mici de heparină

a) 4.4.2. Examenul citologic cantitativ (numărarea elementelor din lichidul de puncţie)
Se execută în cazul probelor de lichid cu aspect clar,opalescent,tulbure sau hemoragic;se pot exclude probele purulente.
Numărătoarea elementelor din lichidul de puncţie se face pe o cameră de numărat Fuchs Rosenthal:
- după agitarea probei se aspiră o cantitate mică de lichid cu o pipetă sterilă şi se depune o picatură pe cameră la marginea lamelei pe coloana centrală.Lichidul difuzează prin capilaritate si acoperă reţeaua.
- se lasă să sedimenteze cateva minute,apoi se examineaza la microscop;
- se numără la microscop cu obiectivul 20.
- cand reacţia inflamatorie e mică/moderată,se numara elementele inflamatorii de pe suprafata întregii reţele,rezultatul se imparte la 3 şi se obţine numărul de elemente pe mmc.Se numără numai elementele inflamatorii,niciodată hematiile.Când există hematii la examenul microscopic,se semnalează prezenţa acestora.
- cand reactia inflamatorie e mai importantă,se numără elementele de pe patru pătrate alese aleator sau de pe o diagonală;rezultatul se inmulţeşte cu 4 şi se împarte la 3,obţinându-se numărul de elemente pe mmc;
- in cazul lichidelor hematice,se foloseste o picătura de acid acetic glacial;acesta lizează hematiile şi lasă numai leucocitele,care se numără.

a) 4.4.3.Examenul citologic calitativ (determinarea tipului de celule din sediment)
- o eprubetă cu lichidul de puncţie se centrifughează 10 minute la 3000 turaţii/minut;
- se decantează supernatantul la flacără in altă eprubetă;
- se omogenizeaza sedimentul în cele câteva picături ce se scurg din eprubetă;
- din sediment se efectuează 4 frotiuri pe lame curate(de preferat noi) si culturi(din probele purulente frotiul se efectuează direct,fără centrifugare);
- rotiurile se usucă la temperatura camerei,apoi se fixează şi se colorează unul cu albastru de metilen/May- Grunwald- Giemsa,unul gram,iar doua sunt de rezervă.
- primul frotiu se colorează cu albastru de metilen 3-5 minute,apoi se spală,se usucă şi se examinează la microscop cu obiectivul cu imersie.
Se numără diferenţiat polimofonuclearele neutrofile(PMN), limfocitele(Lf)
si macrofagele (Mf) pentru a stabili formula procentuala a reacţiei inflamatorii.
Se notează aspectul celulelor: PMN nealterate indica un proces septic acut sau o infectie tuberculoasa la debut,Lf apar in infectii cronice sau de vecinatate,iar eozinofilele exprima o rectie alergica sau parazitara;rare celule epiteliale se evidentiaza in transudate).
- al doilea frotiu se colorează gram si evidenţiază caracterele morftinctoriale ale microorganismelor,frecvenţa şi localizarea.
- în suspiciunea de meningită tuberculoasă,se efectuează un frotiu în straturi suprapuse şi se colorează Ziehl-Neelsen;
- se poate efectua si preparat lama-lamelă pentru depistarea şi identificarea microscopică a criptococilor,amibelor şi leptospirelor din LCR.

a) 4.4.4.Latexaglutinarea

- detectează in ~20 minute antigene bacteriene in cantităţi de ng/ml.Tehnica de lucru este conform prospectului din trusă.Reacţia se efectuează pe probe de LCR incălzite 5 minute în baie de apă la fierbere;proba încălzită se centrifughează 10 minute la 3000 turaţii/minut,iar supernatantul este folosit pentru reacţia de latexaglutinare cu antigen de meningococ grup A,B,C, pneumococ, Haemophilus influenzae b şi Streptococcus agalactiae.

a) 4.4.5.Cultivarea

- este un mijloc de diagnostic specific,dar necesită 24-48 ore si poate fi negativă in cazul prezenţei germenilor neviabili sau dacă pacientul este pretratat cu antibiotice.
- se insămânţeaza 1-2 picaturi din sedimentul LCR/alte lichide sau direct din lichidele purulente pe medii preîncălzite la termostat:câte o placă cu mediu Columbia cu 5% sânge,o placă cu agar şocolat şi un tub cu bulion cord creier si se incubează la 37 grade,in atmosfera cu 5% bioxid de carbon.Se urmăreşte zilnic apariţia culturii,timp de 3 zile pe mediile solide si 5 zile in tubul cu BCC.
- in functie de suspiciunea clinică şi de bacterioscopie,se pot adăuga şi alte medii.
- cand se presupune etiologia tuberculoasă, se însămânţeaza sedimentul LCR centrifugat 30 minute la 3000 G pe mediu Lowenstein-Jensen;se incubează tuburile la 37 grade în poziţie inclinată 24 ore,apoi in poziţie verticală. După 14 zile de incubare se urmăreşte apariţia culturii săptămânal pana la 8 săptămâni.
- pentru cultivarea fungilor se însămânţeaza 1-2 picături din sedimentul de lichid pe o placă cu mediu Sabouraud si se incubează 24 ore la 37 grade ,apoi la temperatura camerei. Se urmăreste apariţia culturii zilnic in prima săptămână,apoi bisăptămânal pâna la 4 săptămâni.

A doua zi

- Se urmăreste apariţia culturilor pe mediile solide si lichide.
- În cazul culturilor pozitive se continuă identificarea până la nivel de specie şi se efectuează antibiograma; daca se pozitivează cultura numai pe BCC,se fac frotiuri şi repicări pe medii solide,cu incubare 24 ore la 37 grade.
- în suspiciunea unei infecţii cu anaerobi,recoltarea se face in recipiente speciale ce menţin condiţiile de anaerobioză.
- pentru identificare se efectuează frotiu din cultură si se pot utiliza următoarele teste:catalaza,oxidaza(pozitivă la meningococi şi Pseudomonas aeruginosa),
latexaglutinare din cultură,testul de sensibilitate la Optochin (pozitiv pentru
pneumococi), testul coagulazei (pentru stafilococi), test de filamentare pentru levuri.

Se poate face identificare automată pe galerie API.

- antibiograma se poate efectua pe cultură primară dacă la microscopia directă se evidenţiază o densitate bacteriană suficientă (zeci de bacterii pe câmp microscopic la examinarea cu imersie x 1000).

Rezultatele vor fi confirmate prin antibiograma pe subcultura standardizată.Este de preferat testarea cantitativă celei difuzimetrice.Se efectuează E test la penicilină si cefotaximă pentru meningococii,pneumococii si streptococii izolaţi din LCR.

- Comunicarea rezultatelor se face etapizat.Rezultatele microscopiei,examenului biochimic,categoria microscopică a izolatelor pot fi comunicate telefonic imediat,urmând a fi completat buletinul de analiza al etapei.

b) 4.4.4.Interpretarea culturilor

Flora bacteriană întâlnită este variată:
-în lichidele pleurale predomină cocii gram pozitivi (Streptococcus pneumoniae, S.pyogenes, stafilococii)
- în etiologia peritonitelor,frecvent se asociază bacterii gram pozitive si gram negative aerobe si anaerobe,predominând Escherichia coli,Enterococcus spp,stafilococi.
- in artrite se identifică mai frecvent stafilococi,streptococi,neisserii
- in etiologia pericarditelor predomină virusuri.

4.4.F. Se comunică rezultatele, prin întocmirea buletinului de analiză cod FGL – 5.8-01.

4.5.Colectarea şi distrugerea deşeurilor se realizează conform POL – 01.

Calculul si exprimarea rezultatelor

4.6 Raportarea rezultatelor

Rezultatele analizei se trec in Buletinul de analiză, cod:FGL – 01, care este semnat şi parafat de către responsabilul de analiză si managerul tehnic.

5. RESPONSABILITĂŢI

5.1. MANAGERUL TEHNIC:

Verifică şi aprobă prin semnătură şi parafează buletinul de analiză,cod FGL – 5.8 – 01.
Oferă consultanţă beneficiarului în legătură cu rezultatul analizei, dacă acesta solicită.
Execută analizele pentru care este responsabil şi validează rezultatul acestora prin semnătură şi parafă.

5.2. RESPONSABILUL DE ANALIZĂ

Verifică solicitarea medicului specialist de pe formularul de solicitare analize de uz intern.
Verifică inregistrările asistentului de laborator ce deseveşte compartimentul 01, din registrul de lucru şi din registrul de comenzi interne.
Examinează preparatele de microscopie optică şi culturile bacteriene dezvoltate pe mediile de cultură, execută repicările, aglutinările pe lamă şi latex aglutinările, interpretează caracterele exoenzimatice dezvoltate de bacterii şi a aglutinărilor pe lamă, respectiv a latex aglutinărilor, decide asupra testelor pe care le execută asistentul de laborator şi formulează diagnosticul de laborator în registrul de lucru.

Întocmeşte şi tipăreşte buletinul de analiză, cod FGL – 5.8 – 01.
Verifică, semnează şi parafează buletinul de analiză, cod FGL – 5.8- 01 şi îl prezintă managerului tehnic spre aprobare.

5.3.ASISTENTUL DE LABORATOR

Preia tuburile cu lichide de punctie concomitent cu formularele de solicitare analize de la registratorul medical din camera de receptie si de la asistentul medical de la cabinetul de recoltare.
Înregistrează probele biologice cu toate datele din formularele de solicitare analize, inclusiv ID-ul probelor în registru de lucru, cod: ?????

Transportă mediile de cultură şi sticlăria pregatită pentru utilizare, în compartimentul de lucru şi pregăteşte mediile de cultură pentru însămânţare.
Efectuează însămânţarea produselor biologice pe medii de cultură, pregăteşte preparatele pentru microscopie optică, efectuează unele teste de laborator indicate de medic.
Transmite buletinul de analiză, cod FGL – 5.8 – 01, registratorului medical respectiv asistentului medical de la cabinetul de recoltă.

6.ÎNREGISTRĂRI

Registrul de lucru, cod RGL - ????????
Buletinul de analiza, cod: FGL – 5.8 – 01.

EXUDAT FARINGIAN SI NAZAL – CULTURA SI MICROSCOPIE

1.INTRODUCERE
- **1.1 SCOP**
- **1.2 DOMENIUL**
- **1.3 SEMNIFICATIE CLINICA**
- **1.4 REFERINTE**
- **1.5 ABREVIERI**
- **1.6 DEFINITII**
- **1.7 CONSIDERATII DE SECURITATE SI PROTECTIE**
- **1.8 ECHIPAMENTE**
- **1.9 REACTIVI SI ALTE SUBSTANTE**
- **1.10 PROBA**

2.FORMULAREA PROCEDURII
- **2.1 GENERALITATII**
- **2.2 CONTINUTUL PROCEDURII**
- **2.3 CONTROL DE CALITATE**
- **2.4 PROCESAREA REZULTATELOR**
- **2.5 VALIDARE**

3. ALTE INFORMATII

4. RESPONSABILITATII

5. FORMULARE, DOCUMENTE, INREGISTRARI

6. ANEXE

Autor	Verificat	Aprobat	Data aprobării
Biol. Sp. Daniela Marghidan Biol.Sp.Florina Gheorghe	Manager Calitate Biol. Sp. Daniela Marghidan	Sef Laborator Dr. Nicoleta Buica	01.04.11

LISTA DE DIFUZARE ŞI RETRAGERE

Nr. Crt.	**Nume prenume**	**Exemplar controlat nr.**		**Mod difuzare**		**Obser-vatii***	**Data retragerii/ Semnatura**	**Obse vatii**
				Tiparit	**Elec-tronic**			

1. Se va trece daca se documentul este difuzat/retras partial sau total

1. INTRODUCERE

1.1 SCOP

Aceasta procedura descrie metoda de depistare si identificare a microorganismelor cu semnificatie patogena din exudatul faringian si nazal .

1.2 DOMENIUL DE APLICARE

Procedura este utilizata la nivelul Laboratorului de Analize Medicale Compartiment Microbiologie - Parazitologie din cadrul MUNTENIA MEDICAL COMPETETENCES

1.3 SEMNIFICATIE CLINICA

1.3.1 Semnificatie clinica - exudat farinigian

Examenul bacteriologic al exudatului faringian este practicat in scopul precizarii diagnosticului etiologic in urmatoarele cazuri:

-diagnosticul faringitelor si anginelor streptococice ;
-diagnosticul altor angine bacteriene (*Enterobacteriaceae si Pseudomonas*) ;
-depistarea portajului de Strepptoccocus pyogenes si Stafilococcus aureus ;
-diagnosticul anginelor fungice;

Infectii bacteriene

Agentii etiologici cei mai des intalniti in faringite :

Streptococcus pyogenes este responsabil de majoritatea faringitelor bacteriene carora le imprima gravitate prin complicatii infectioase (sinuzite, otite medii, mastoidite, adenite cervicale supurate, flegmon amigdalian) sau postinfectioase (reumatism poliarticular acut, miocardita acuta,glomerulonefrita acuta, coree).

La copilul mic infectie evolueaza ca o nazofaringita subacuta cu exudat discret si febra moderata .

La copilul mare si adult manifestarile sunt acute, zgomotoase: febra mare, cefalee, disfagie ,greata, varsaturi. Pacientii au faringele puternic congestiv, angina cu variate aspecte ale mucoasei (pultaceu, ulcerativ, cu false membrane, petesial) frecvent cu adenita cervicala.

Faringitele cu tulpini eritrotoxigene de Streptococcus pyogenesse insotesc cu scarlatina cand pacientii nu sunt imuni la aceasta toxina.

Alti streptococi piogeni (grup B,C, sau G) sunt ocazional cauza a unor faringite a caror evolutie poate fi grava.

Izolarea predominanta si in cantitate mare de **Stafilococcus aureus,Klebsiella pneumoniae** sau alte **Enterobacteriaceae ori Pseudomonas aeruginosa** reflecta disbioza oro-faringiana a unor pacienti spitalizati, eventual sub antibioticoterapie,ori varstnici si nu are in mod necesar semnificatie clinica.

Infectii fungice

In conditii de disbioza, levurile din microbiocenaza oro-faringiana, in special **Candida albicans**, se inmultesc excesiv si pot determina stomatita si faringita mai frecvent la prematuri, nou –nascuti, pacienti debilitati. Zonele afectate ale mucoasei (linguale, faringiene) apar puternic congestive si acoperite cu depozite alb –cenusii, care pot conflua intr-o falsa membrana .

Prezenta in cantitate enorma de levuri ,mai ales sub forma de pseudohife,care denota crestere submersa in epiteliu malpighian are valoare diagnostica.Valoare diagnostica are numai izolarea predominanta si in cantitate mare de Candita albicans ,rar C tropicalis ,in concordanta cu rezultatele microscopiei directe.Izolarea unei specii de Candida fara confirmarea frotiului direct este nesemnificativa.

1.3.2 Semnificatie clinica - exudat nazal

Cercetarea bacteriologica a exudatului nazal este indicat pentru:

- depistarea portajului de **Staphilococcus aureus** cu mentiunea folosirii tratamentului local sau a antibiogramei in functie de contextul clinicoepidemioogic ;
- depistarea portajului de **Streptococcus pyogenes** cu mentiunea folosirii antibogramei in functie de contextul epidemiologic;

1.4 REFERINTE

Dumitru Buiuc,Marian Negut,Tratat de microbiologie clinica ,Editura Medicala 2008;

Metode de laborator - de uz curent - vol II Editura Medicala 1977;

Mircea Ioan Popa Diagnosticul de laborator in microbiologie, , Editura Medicala, Bucuresti, 2004;

Prof. Dr. V. Bilbie,Prof. Dr. N. Pozsgi, Bacteriologie medicala,Editura Medicala, Bucuresti, 1984;

1.5 ABREVIERI

N.A

1.6 DEFINITII

Angina - inflamatie de obicei acuta a faringelui si a amigdalelor, provocata de agenti infectiosi variati;

Laringita - inflamatie acuta sau cronica a mucoasei laringiene consecutiva unei inflamatii microbiene sau virotice;

Faringita - inflamatia mucoasei faringiene, cu diverse aspecte anatomoclinice, manifestata prin disfagie, dureri la deglutitie si exarcebare prin expunerea bolnavului debilitat la frig, umezeala si alti factori nocivi.

Gingivita - inflamatiilor gingiilor , singura sau in asociere cu stomatita , din cauze iritative , toxice sau infectioase .

Scarlatina - boala infectocontagioasa determinata de streptococul beta hemolitic de grup A si caracterizata prin angina , febra eruptie micropapuloasa, pe fond congestiv , urmata de descuamatie.

Rinite - inflamatie acuta sau cronica a mucoasei foselor nazale

Sinuzite - infamatie acuta sau cronica a mucoasei care captuseste sinusurile paranazale

1.7 CONSIDERATII DE SECURITATE SI PROTECTIE

Operatorul care realizeaza analiza va purta echipament de protectie: halat, manusi si va respecta normele de protectia muncii si de lucru specifice laboratorului .

1.8 ECHIPAMENTE

- microscop;
- termostat;
- hota cu flux laminar
- lampa UV
- frigider;

Resurse

- ansa;
- lame microscop ;
- ulei de cedru;
- bec de gaz ;
- baie colorare ;
- lupa ;
- cutii Petri;

Pentru transmiterea rezultatelor se foloseste sistemul informatic al laboratorului .

1.9 REACTIVI SI ALTE SUBSTANTE

- medii de cultura : geloza-sange, agar manitol ,geloza lactozata,agar Sabouraud (pentru exudat faringian la cerere expresa)
- materiale de control, tulpini de referinta;
- teste biochimice pentru identificare Enterobacteriaceae(TSI,MIU,Citrat);
- trusa identificare grup streptococi;
- trusa identificare Staphilococcus aureus;
- coloranti pentru coloratia Gram si May Grundwald Giemsa;

Mediile de cultura sunt medii ,, ready to use'',fiecare lot de medii de cultura care intra in laborator fiind insotite de certificate de calitate , care atesta conformitatea cu cerintele specificate: grosime turnat in placa, ph-ul mediului, sterilitatea, etc.

1.10 PROBA

Este reprezentata de tamponul cu produsul faringian sau exudat nazal prelevat.

2 FORMULAREA PROCEDURII

2.1 GENERALITATI

Principiul biologic care sta la baza examinarii exudatului faringian si a exudatului nazal consta in recoltarea, cultivarea, examinarea si identificarea agentului patogen si determinarea sensibilitatii la antibiotice a acestuia.

2.2 CONTINUTUL PROCEDURII

2.2.1 Prelevarea exudatului faringian

Prelevarea se face dimineata pe nemancate (in absenta unui gargarism cu antiseptice) sau cel putin dupa 4 ore de la ingerarea de alimente .

De electie prelevarea secretiei faringiene se face inaintea instituirii tratamentului cu antibiotice.
Tehnica de recoltare

- Se aseaza pacientul pe scaun cu fata spre sursa de lumina, gatul in usoara extensie si ceafa sprijinita de spatar sau perete.

- Se deprima baza limbii cu apasatorul si, in timp ce pacientul pronunta vocala "a", se sterg ferm cu tamponul amigdalele si peretele posterior al faringelui, insistand asupra zonelor inflamate,

ulcerate sau cu depozite purulente; daca exista false membrane, acestea se desprind usor, tamponandu-se mucoasa subiacenta; atat la introducerea cat si la scoaterea tamponului, se evita atingerea bazei limbii si a palatului moale.

- Se introduce tamponul in tubul protector simplu sau prevazut cu mediu de transport (Amies sau Stuart), care se eticheteaza corespunzator.

- Se preleva un tampon prevazut cu mediu de transport pentru efectuarea culturii.

Transportul probelor catre laborator se face in maximum *2 ore* de la prelevare. Desi probele prelevate pe tampoane in tuburi ce contin mediu de transport pot fi pastrate pana la 24 ore, este recomandat ca insamantarile pe mediile de cultura sa se faca imediat ce probele ajung la laborator, pentru o mai sigura recuperare a microorganismelor urmarite.

2.2.2 Prelevarea exudatului nazal

Tehnica de recoltare

- se aseaza pacientul pe scaun cu fata spre sursa de lumina, gatul in usoara extensie si ceafa sprijinita de spatar sau perete;

- se introduce bland tamponul printr-o nara de-a lungul planseului nazal, pana atinge peretele posterior al nazofaringelui;

- se lasa tamponul pe loc cateva secunde, apoi se roteste usor si se retrage;

- se introduce tamponul in tubul protector prevazut cu mediu de transport (Amies sau Stuart), se eticheteaza si se trimite la laborator.

Recoltarea exsudatului nazofaringian in contextul suspiciunii de sinuzita nu este recomandata, in aceasta afectiune produsul patologic de electie fiind punctia sinusala.

Se recomanda recoltarea produsului patologic pe un tampon prevazut cu mediu de transport pentru efectuarea culturii.

De electie prelevarea secretiei nazale se face inaintea instituirii tratamentului cu antibiotice sau antiseptice.

2.2.2 Transportul

Transportul probelor catre laborator se face in maximum 2 ore de la prelevare. Desi probele prelevate pe tampoane in tuburi ce contin mediu de transport pot fi pastrate pana la 24 h, este

recomandat ca insamantarile pe mediile de cultura sa se faca imediat ce probele ajung la laborator, pentru o mai sigura recuperare a microorganismelor urmarite

2.2.3 Pregatire pentru testare

Se pregatesc Fisele de lucru - Microbiologie in care se noteaza: numarul curent al probei, data analizei, numar inregistrare pacient (ID), analiza, numele operatorului si a celui care valideaza analiza.

Se scot placile Petri cu mediile de cultura din frigider, pentru aclimatizare.

2.2.4 Tehnica de lucru

2.2.4.1 Tehnica de lucru exudat farinigian

Examenul bacteriologic include cultura pe urmatoarele medii:

- geloza agar cu 5% sange de berbec;
- agar manitol;
- geloza lactozata(Mac Conkey sau AABTL)
- agar Sabouraud cu Chloramfenicol pentru izolarea fungilor(la cererea expresa);

Efectuarea insamantarilor se face pe jumatate de placa prin descarcarea tamponului pe mediile amintite dupa tehnica epuizarii tamponului .Se ruleaza toate fetele tamponului pe un cadran al unei placi cu diametrul de 9 cm,se epuizeaza apoi inoculul cu ansa .

Se creeaza conditii microaerofile care protejeaza de oxidare streptolizina O si permit depistarea de Streptococcus pyogenes neproducatoare de streptolizina S, prin intepare sau scurta sectionare a mediului cu ansa la sfarsitul epuizarii.Se folosesc placi cu un strat mai gros de mediu.

Incubarea culturilor

Se face uzual aerob peste noapte, la 37 C cu prelungire pana la 48 ore daca la prima citire a placilor lipsesc coloniile beta hemolitice caracteristice.

Citirea culturilor si identificarea microorganismelor

Coloniile caracteristice se repica in vederea obtinerrii culturii pure necesare pentru identificarea microorganismelor.

Identificarea microorganismelor din culturile pozitive se face pe baza caracterelor culturale,morfotinctoriale, biochimice ,antigenice si de patogenitate.

1. Streptococii beta hemolitici

Streptococcus pyogenes este responsabil de majoritatea faringitelor bacteriene .Alti streptococi piogeni (grup B,C sau G) sunt ocazional cauza unor faringite a caror evolutie poate fi grava .

Caractere de cultivare :

Pe medii agarizate si suplimentate cu 5% singe de berbec aspectul coloniilor variaza cu specia si mediul de baza utilizat:
***Sreptococi beta hemolitici de grup A, C si G** au colonii mari(>0,5mm diametru)in general trasparente si pot fii :

-mucoide cu suprafata luciuoasa convexe ,filante ;
- netede luciose (glossy) rotunde acumilate cu margini regulate;
-rugoase,turtite ,uscate cu margini dintate .

Caractere microscopice

Streptococii sunt coci gram pozitivi .In prelevatele din leziuni active,intinse si profunde,streptococii piogeni apar sub forma de coci sferici izolati sau in perechi, in timp ce in puroi formeaza lanturi cu diferite lungimi.

Caractere antigenice

Identificarea grupului Lancefield se realizeaza cu Trusa latex aglutinare pentru identificare grup(A, B, C, D, F,G) ;

2 . Stafilococcus aureus

Caractere de cultivare:

Aspectul coloniilor:

Pe agar cu 5 % sange defibrinat de berbec produc o zona circulara de hemoliza in jurul coloniei.Hemolizina alfa a S.aureus determina hemoliza totala cu clarificarea completa a mediului. .Beta -hemolizina tulpinilor animale de S.aureus,intilnita ocazional si la tulpini umane,determina o hemoliza de tip "cald -rece":zone de hemoliza incompleta la 37° C ,care ,dupa expunerea culturii citeva ore la 4 ° C devine completa ,similara celei produse de hemolizina alfa (

Pe mediul solid hiperclorurat:colonii galbene,manitol pozitive,ingalbenesc mediul.
Pigment:

Prezenta pigmentului carotenoid ,portocaliu sau galben citrin, este o caracteristica relativ constanta a tulpinilor de S.aureus, dar si a unor stafilococi cogulaza- negativi cum sunt :S.saprofitichus, S.homnis,Pigmentarea coloniilor pe mediile nutritive simple sau cu adaus de sange

defrinat poate intarzia timp de 24-48 ore in cazul tulpnilor de S.aureus supuse unui tratament nefavorabil dezvoltarii lor(antibiotic, antiseptic, termic)

Diametrul coloniilor:
5-10 mm

Caractere de patogenitate (Testul coagulazei)

Identificarea rapida a speciei se face cu ajutorul reactivilor comerciali de aglutinare indirecta. Reactivii sensibilizati cu fibrinogen si Ig G cupleaza coagulaza legata respectiv proteina A din peretele S.aureus, ducand la aglutinarea amestecului dintre reactiv si cultura de S. aureus.

Reactivii care contin in pus anticorpi anti-zaharid capsular asigura identificarea cu un plus de sensibilitate a tulpinilor de s. aureus meticilino-rezistente.

3. Enterobacteriaceae

Caractere de cultivare

Pe agar sange :forma "S ":colonii de 2-3 mm ,rotunde, bombate, umede cu suprafata neteda simargini regulate

forma"R':colonii de 2-3mm ,rotunde ,plate cu suprafata rugoasa si marginile neregulate

Unele tulpini dezvolta hemoliza;

Aspecte particulare :

- ●colonii mucoide de 4-5 mm ,rotunde ,bombate,cu margini regulate, tendinta la confloare aspect mucos la repicarea cu ansa (frecvente la Klebsiella si Escherichia)
- ●colonii pigmentate :pigment rosu(Serattia spp)galben (Enterobacter spp)
- ●crestere invanziva :in jurul coloniei se dezvolta zone de mirare concentrice (caracteristica pentru genul Proteus)

Pe geloza lactozata(medii slab selective):colonii lactozo pozitive((pozitive(Escherichia coli,Enterobacter,Klebsiella,)si lactozo negative(Proteus)

Aspectul coloniilor pe geloza lactozata (Mac ConcKey ,AABTL)

Specia sau grupul	**Mac Conkey**	**AABTL**
Escherichia coli	Rosu	galben
Enterobacter	Rosu	galben
Citrobacter	Rosu sau necolorat	galben sau verde
Klebsiella	Rosu	galben sau verde

Proteus	Necolorat	verde

Caractere biochimice

Se folosesc medii multi-test conventionale(TSI< MIU/MILF,Citrat)

Tabel nr. 3 Teste de identificare a Enterobacteriaceelor (tabel scanat)

Genul /specia	**TSI**				**MIU**			Citrat Simmons
	I	**D**	**G**	**H2S**	**M**	**I**	**U**	
Escherichia	Ac	Ac	+(-)	-	+(-)	+	-	-
Citrobacter	Ac(Alc)	Ac	+	+	+	-	-(+)	+
Enterobacter	Ac	Ac	++	-	+	- (+)	-/+	+(-)
Klebsiella	Ac	Ac	++	-	-	-	+ (-)	+
Serratia	Ac(Alc)	- (+)	-	+	+	-	-(+)	+
Proteus vulgaris	Ac (Alc)	Ac	+	+	+	+	+	-(+)
Proteus mirabilis	Alc(Ac)	Ac	+	+	+	-	+	+ (-)
Proteus rettgeri	Alc	Ac	-	-	+	+	+	+
Providencia	Alc	Ac	+ (-)	-	+	+	-	+

+/- = reactie variabila predominent +
-/+ = reactie variabila predomenent –
(+) = rar pozitiva
(-) = rar negativa
Alc = alcalin
Ac = acid
I = partea inclinata
D = partea dreapta

4.Pseudomonas

Caractere de cultivare

Pe geloza simpla:

●Colonii de tip 1: mari,2-3 mm diametru rotunde cu centrul bombat ,margini neregulate si tendinta invanziva (aspect de ou prajit);suprafata granulara;consistenta untoasa;dau sunspensii omogene .

●Colonii de tip 2:mai mici convexe ,caale coliformilor;dau suspensii omogene

Colonii de tip 3:convexe,rugoase ;dau sunspensii granulare .

●Colonii mucoide :initial convexe u tmpul tind sa conflueze unele devin apoase,traslucide ;altele cu consistenta gumoase.

●Colonii pitice cultiva dupa 48 -72 de incubare .

Cultura are suprafata iridiscenta cu luciu metalic si plaje de autoliza .

Cultura degaja aroma patrunzatoare particulara asemanatoare florilor de asomie .

Pe geloza sange : Multe tulpini sunt puternic hemolitice;tardiv coloreaza mediul in brun.

Pe Agar Mac Conkey colonii mici lactozo -negative ,aderente la mediu.

Caractere biochimice

●este un germene catalazo-pozitiv ;

●Pigmentogeneza:pigmenti difuzibili :piocianina (albastru)si pioverdina(galben-verde sau galben brun dau culturii si progresiv,mediului culoare verde stralucitoare .

Alti pigmenti solubili in apa mai rar produsi:piorubrina,piomelanina(brun,brun-negru).

●Teste biochimice:

TSI:acid din glucoza= pozitiv ; lactozo = negativ:H2S=negativ ;
MIU :mobilitate = pozitiv ; ureaza= 11-89% din tulpini pozitive ; indol= negativ
MILF :fenilalanindezaminaza=negativ ;lizindecarboxilaza=negativ ;indol =negativ
Citrat:pozitiv

●Reactia oxidazei:pozitiva

Caractere microscopice

Coloratia gram nu permite diferentieri intre bacilii gram negativi nefermentativi :
sunt bacili fini de 0,3-0,5 µm grosime /1,5-3µm lungime ,dispusi izolat in pereti sau scurte lanturi

Medii de cultura , conditii si microorganisme

Conditii clinice	**Medii standard**	**Incubare**			**Microorganisme identificate**
		temp	**atmosf**	**timp**	

Faringite Angine Amigdalite Laringite Stare de portaj	geloza sange agar manitol gelosa lactozata agar Sabouraud	37° C	aerobioza	16-24 ore	Streptococii de grup A, Staphylococcus aures Pseudomonas aeruginosa Enterobacteriaceeae Fungi
Antibiograma (fungigrama) pentru germeni patogeni					

2.2.4.2 Tehnica de lucru – exudat nazal

Examenul bacteriologic include cultura pe urmatoarele medii:

- geloza agar cu 5% sange de berbec;
- agar manitol;
- geloza lactozata(Mac Conkey sau AABTL)

Efectuarea insamantarilor se face pe jumatate de placa prin descarcarea tamponului pe mediile amintite dupa tehnica epuizarii tamponului .Se ruleaza toate fetele tamponului pe un cadran al unei placi cu diametrul de 9 cm,se epuizeaza apoi inoculul cu ansa .

Se creeaza conditii microaerofile care protejeaza de oxidare streptolizina O si permit depistarea de Streptococcus pyogenes neproducatoare de streptolizina S, prin intepare sau scurta sectionare a mediului cu ansa la sfarsitul epuizarii.Se folosesc placi cu un strat mai gros de mediu

Incubarea culturilor

Incubarea culturilor se face uzual aerob peste noapte, la 37 C cu prelungire pana la 48 ore daca la prima citire a placilor lipsesc coloniile beta hemolitice caracteristice.

Citirea culturilor si identificarea microorganismelor

Coloniile caracteristice se repica in vederea obtinerrii culturii pure necesare pentru identificarea microorganismelor.

Identificarea microorganismelor din culturile pozitive se face pe baza caracterelor culturale,morfotinctoriale, biochimice ,antigenice si de patogenitate

1 Streptococcus pyogenes

Caractere de cultivare :

Pe medii agarizate si suplimentate cu 5% singe de berbec aspectul coloniilor variaza cu specia si mediul de baza utilizat:
Sreptococici beta hemolitici de grup A au colonii mari(>0,5mm diametru)in general trasparente si pot fii :

- ●mucoide cu suprafata luciuoasa convexe ,filante ;
- ● netede luciose (glossy) rotunde acumilate cu margini r
- ●rugoase,turtite ,uscate cu margini dintate .

Caractere biochimice :

- ●streptococii piogeni produc hemoliza de tip beta.
- ●multiplicarea streptococilor de grup este inhibata de bacitracina.Se apreciaza ca dintre tulpinile de Streptococcus pyogenes , mai putin de 1% sunt rezistente la bacitracina(testul la bacitracina (ILS-01) ;
- ●streptococii piogeni sunt rezistenti la trimetoprim-sulfametoxazol ;

Caractere microscopice

Streptococii sunt coci gram pozitivi ,sferici sau ovoidali, cu diametrul de circa 1 µm.In prelevatele din leziuni active,intinse si profunde,streptococii piogeni apar sub forma de coci sferici izolati sau in perechi, in timp ce in puroi formeaza lanturi cu diferite lungimi.

Caractere antigenice

Identificarea grupului Lancefield se realizeaza cu Trusa latex aglutinare pentru identificare grup(A, B, C, D, F,G) ;

2 . Stafilococcus aureus

Caractere de cultivare

Aspectul coloniilor

Pe agar cu 5 % sange defibrinat de berbec produc o zona circulara de hemoliza in jurul coloniei.Hemolizina alfa a S.aureus determina hemoliza totala cu clarificarea completa a mediului. .Beta -hemolizina tulpinilor animale de S.aureus,intilnita ocazional si la tulpini umane,determina o hemoliza de tip "cald -rece":zone de hemoliza incompleta la 37° C ,care ,dupa expunerea culturii citeva ore la 4 ° C devine completa ,similara celei produse de hemolizina alfa (

Pe mediul solid hiperclorurat:colonii galbene,manitol pozitive,ingalbenesc mediul.

Pigment

Prezenta pigmentului carotenoid ,portocaliu sau galben citrin, este o caracteristica relativ constanta a tulpinilor de S.aureus, dar si a unor stafilococi cogulaza- negativi cum sunt :S.saprofitichus, S.homnis,Pigmentarea coloniilor pe mediile nutritive simple sau cu adaus de sange defrinat poate intarzia timp de 24-48 ore in cazul tulpnilor de S.aureus supuse unui tratament nefavorabil dezvoltarii lor(antibiotic, antiseptic, termic)

Diametrul coloniilor:
5-10 mm
Caractere de patogenitate (Testul coagulazei)

Identificarea rapida a speciei se face cu ajutorul reactivilor comerciali de aglutinare indirecta. Reactivii sensibilizati cu fibrinogen si Ig G cupleaza coagulaza legata respectiv proteina A din peretele S.aureus, ducand la aglutinarea amestecului dintre reactiv si cultura de S. aureus. Reactivii care contin in pus anticorpi anti-zaharid capsular asigura identificarea cu un plus de sensibilitate a tulpinilor de s. aureus meticilino-rezistente.

4. Enterobacteriaceae

Caractere de cultivare

Pe agar sange :forma "S ":colonii de 2-3 mm ,rotunde, bombate, umede cu suprafata neteda simargini regulate

forma"R':colonii de 2-3mm ,rotunde ,plate cu suprafata rugoasa si marginile neregulate
Unele tulpini dezvolta hemoliza;
Aspecte particulare :

- ●colonii mucoide de 4-5 mm ,rotunde ,bombate,cu margini regulate, tendinta la confloare aspect mucos la repicarea cu ansa (frecvente la Klebsiella si Escherichia)
- ●colonii pigmentate :pigment rosu(Serattia spp)galben (Enterobacter spp)
- ●Crestere invanziva :in jurul coloniei se dezvolta zone de mirare concentrice (caracteristica pentru genul Proteus)

Pe geloza lactozata(medii slab selective):colonii lactozo pozitive((pozitive(Escherichia coli,Enterobacter,Klebsiella,)si lactozo negative(Proteus)

Aspectul coloniilor pe geloza lactozata (Mac ConcKey ,AABTL)

Specia sau grupul	**Mac Conkey**	**AABTL**
Escherichia coli	Rosu	galben
Enterobacter	Rosu	galben

Citrobacter	Rosu sau necolorat	galben sau verde
Klebsiella	Rosu	galben sau verde
Proteus	Necolorat	verde

Caractere biochimice

Se folosesc medii multi-test conventionale(TSI< MIU/MILF,Citrat)
Tabel nr. 3 Teste de identificare a Enterobacteriaceelor (tabel scanat)

Genul /specia	**TSI**				**MIU**			Citrat Simmons
	I	**D**	**G**	**H2S**	**M**	**I**	**U**	
Escherichia	Ac	Ac	+(-)	-	+(-)	+	-	-
Citrobacter	Ac(Alc)	Ac	+	+	+	-	-(+)	+
Enterobacter	Ac	Ac	++	-	+	- (+)	-/+	+(-)
Klebsiella	Ac	Ac	++	-	-	-	+ (-)	+
Serratia	Ac(Alc)	- (+)	-	+	+	-	-(+)	+
Proteus vulgaris	Ac (Alc)	Ac	+	+	+	+	+	-(+)
Proteus mirabilis	Alc(Ac)	Ac	+	+	+	-	+	+ (-)
Proteus rettgeri	Alc	Ac	-	-	+	+	+	+
Providencia	Alc	Ac	+ (-)	-	+	+	-	+

+/- = reactie variabila predominent +
-/+ = reactie variabila predomenent –
(+) = rar pozitiva
(-) = rar negativa
Alc = alcalin
Ac = acid
I = partea inclinata
D = partea dreapta

4.Pseudomonas

Caractere de cultivare

Pe geloza simpla:

●Colonii de tip 1: mari,2-3 mm diametru rotunde cu centrul bombat ,margini neregulate si tendinta invanziva (aspect de ou prajit);suprafata granulara;consistenta untoasa;dau sunspensii omogene .

●Colonii de tip 2:mai mici convexe ,caale coliformilor;dau suspensii omogene
Colonii de tip 3:convexe,rugoase ;dau sunspensii granulare .

●Colonii mucoide :initial convexe u tmpul tind sa conflueze unele devin apoase,traslucide ;altele cu consistenta gumoase.

●Colonii pitice cultiva dupa 48 -72 de incubare
Cultura are suprafata iridiscenta cu luciu metalic si plaje de autoliza .
Cultura degaja aroma patrunzatoare particulara asemanatoare florilor de asomie .

Pe geloza sange :
Multe tulpini sunt puternic hemolitice;tardiv coloreaza mediul in brun.
Pe Agar Mac Conkey colonii mici lactozo -negative ,aderente la mediu.

Caractere biochimice

Pigmentogeneza:

Pseudomonas produce pigmenti difuzibili :piocianina (albastru)si pioverdina(galben-verde sau galben brun dau culturii si progresiv,mediului culoare verde stralucitoare .
Alti pigmenti solubili in apa mai rar produsi:piorubrina,piomelanina(brun,brun-negru).

Teste biochimice:
TSI:acid din glucoza= pozitiv ; lactozo = negativ:H2S=negativ
MIU :mobilitate = pozitiv ; ureaza= 11-89% din tulpini pozitive ; indol= negativ
MILF :fenilalanindezaminaza=negativ ;lizindecarboxilaza=negativ ;indol =negativ
Citrat:pozitiv

Reactia oxidazei:pozitiva

Caractere microscopice

Coloratia gram nu permite diferentieri intre bacilii gram negativi nefermentativi :
sunt bacili fini de 0,3-0,5 µm grosime /1,5-3µm lungime ,dispusi izolat in pereti sau scurte lanturi

Antibiograma - pentru germenii patogeni (vezi PSL – 14)

Cultura : medii , conditii si microorganisme identificare :

Semnificatie clinica	**Mediul de cultura** **Standard**	**Incubare**			**microorganisme identificate**
		Temp	**Atmos**	**Timp**	
stare de portaj Stafilococcus aureus si streptococii hemolitici afectiuni nazale (rinite , ozaena, rinoscleromul)	geloza sange agar manitol geloza lactozata	37 °C	aeroba	16-48 ore	Staphylococcus aureus Streptococ beta hemolitic Bacili gram negativi
Antibiograma pentru germeni patogeni					

2.3 CONTROL DE CALITATE

Reactivii necesari pentru efectuarea testului (mediile de cultura, colorantii pentru coloratia Gram si May Grundwald Giemsa) sunt controlati cu tulpini de referinta existente la nivelul Departamentului.

Tulpini de referinta

- **Staphylococcus aureus ATCC 25923**
- **Escherichia coli ATCC 25922**
- **Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853**

Aceste controale sunt introduse in lucru la fiecare lot de medii de cultura achizitionate, sau ori de cate ori este nevoie.

Echipamentele sunt verificate (tehnic si metrologic) dupa un program prestabilit.

2.4 PROCESAREA REZULTATELOR

2.4.1 Interpretare rezultate

Pentru efectuarea unei identificarii definitive, este nevoie de corelarea caracterelor morfologice si culturale cu cele metabolice si de patogenitate .

REZULTATUL PROCEDURII

1 Microscopia

In cadrul examinarii microscopice, se noteaza tipul elementelor celulare (celule epiteliale pavimentoase, leucocite) precum si varietatea de germeni si frecventa lor .

1.1 Rezultatul la microscopie

La solicitare rezultatul poate fi raportat telefonic
Rezultat scris, 16-72 ore

Cultura exudat faringian

Se raporteaza rezultatul prin prezenta /absenta urmatorilor germeni**:**

Streptococ beta hemolitic ;
Staphylococcus aureus ;
Bacililor gram negativi, lactozo.....din genul .....
Candida sp ;

Cultura exudat nazal

Se raporteaza rezultatul prin prezenta /absenta urmatorilor germeni**:**

Streptococ beta hemolitic ;
Staphylococcus aureus ;
Bacililor gram negativi, lactozo.....din genul .....

1.2 Raportarea rezultatului la cultura

La solicitare rezultatul poate fi raportat telefonic
Rezultatul scris , 16-72 ore

1.2.1.1.1.1.1.1.1 Antibiograma , fungigrama

Se realizeaza antibiograma sau fungigrama pentru microorganismele cu semnificatie clinica

2.5 VALIDARE

Validarea tehnica a rezultatelor este realizata de catre operator .

Validarea bioanalitica a rezultatelor este realizata de catre Seful de laborator

2.6 RAPORTARE

- Comunicarea rezultatelor se face conform 2.4

  - in baza de date a Laboratorului;
  - pacientului si medicului curant;
  - rezultatele urgentelor se transmit telefonic si se noteaza in Registrul anunturi

- Elaborare buletin de analiza

3 ALTE INFORMATII

N.A

4 RESPONSABILITATI

Cadre cu studii medii si superioaree.

5 FORMULARE, DOCUMENTE, INREGISTRARI RELEVANTE

5.1 Fise de lucru – Exudat farinigian si nazal cod:FGL - 11- 01

6 ANEXE

6.1 Buletin de analiza.

7 INDICATORUL MODIFICARILOR

Revizia	Intocmit	Verificat	Aprobat	Data aprobarii	Puncte modificate
0	Biol. Sp. Daniela Marghidan Biol.Sp. Florina Gheorghe	Manager Calitate Biol. Sp. Daniela Marghidan	Sef Laborator Dr. Nicoleta Buica	01.05.11	Document nou

Sfarsit document

SECRETIE OCULARA, OTICA, VAGINALA, URETRALA, DIN COLECTII DESCHISE , LICHID DE PUNCTIE -CULTURA SI MICROSCOPIE

1 INTRODUCERE
- **1.1 SCOP**
- **1.2 DOMENIUL**
- **1.3 SEMNIFICATIE CLINICA**
- **1.4 REFERINTE**
- **1.5 ABREVIERI**
- **1.6 DEFINITII**
- **1.7 CONSIDERATII DE SECURITATE SI PROTECTIE**
- **1.8 ECHIPAMENTE**
- **1.9 REACTIVI SI ALTE SUBSTANTE**
- **1.10 PROBA**

2 FORMULAREA PROCEDURII
- **2.1 GENERALITATII**
- **2.2 CONTINUTUL PROCEDURII**
- **2.3 CONTROL DE CALITATE**
- **2.4 PROCESAREA REZULTATELOR**
- **2.5 VALIDARE**

3 ALTE INFORMATII
4 RESPONSABILITATII
5 FORMULARE, DOCUMENTE, INREGISTRARI
6 ANEXE

Autor	Verificat	Aprobat	Data aprobării
Biol. Sp. Daniela Marghidan Biol.Sp. Florina Gheorghe	Manager Calitate Biol.Sp. Daniela Marghidan	Sef Laborator Dr. Nicoleta Buica	
			04.2011

1 INTRODUCERE

1.1 SCOP

Aceasta procedura descrie metoda de depistare si identificare a microorganismelor cu semnificatie patogena din secretiile oculare, otice, vaginale, uretrale si colectii deschise, utilizand metoda culturii microbiologice si a microscopiei.

1.2 DOMENIUL DE APLICARE

Procedura este utilizata la nivelul MUNTENIA MEDICAL COMPETENCES, in cadrul Laboratorului de Analize Medicale – Compartiment Microbiologie – Parazitologie

1.3 SEMNIFICATIE CLINICA

1.2.1 Semnificatie clinica – secretie oculara

Infectiile ochilor pot fi determinate de o varietate de microorganisme . Desii tamponul recoltat din ochi poate fi contaminat cu numeroase microorganisme de pe piele orice microorganism trebuie prelucrat pana la obtinerea unui rezultat final , daca semnificatia clinica impune acest lucru.

Organismele exogene pot fi introduse in ochi prin intermediul mainilor , a lentilelor de contact , in cazul unor leziuni sau a unor interventii chirurgicale , precum si prin raspindirea de la tesuturile vecine. De la alte focare de infectie aparute in organism se poate realiza propagarea pe cale hematogena cu localizare oculara

Cercetarea bacteriologica a secretiei oculare este practicata in scopul precizarii diagnosticului etiologic in afectiuni ale ochiului .

Dintre afectiunile ,, blinde'' ale ochilor amintim **conjunctivita** (inflamatia conjunctivei) si **blefarita** (inflamatia ploapelor) . Conjunctivitele pot apare in asociatie cu infectia pleoapelor (**blefaroconjunctivita**) sau cu inflamatia corneei (**keratoconjunctivita**) .

Printre infectiile mai putin frecvente dar mai severe sunt incluse **keratitele** (inflamatii ale corneei) si **endoftalmitele** (afectiuni inflamatorii ale uveei si mediilor interne ale globilor oculari) .Dintre infectiile perioculare sunt de amintit **dacrioadenitele** (inflamatia glandei lacrimale) , **dacriocistitele** (inflamatia sacului lacrimal) , **canaliculitele** (infectii ale cailor lacrimale) precum si **celulitele** ale orbitei.

1.2.2 Semnbificatie clinica – secretii otice

Cercetarea bacteriologica a secretiei otice este practicata in scopul precizarii diagnosticului etiologic in cazul infectiilor auditive.

Infectiile autitive pot fi impartite in otite externe si otite medii

Otitele externe

Otitele externe sunt infectii ale canalului auditiv extern . Patogenetic au particularitati proprii infectiilor tegumentului . Ele pot fi impartite in : otite externe acute localizate, otite externe acute difuze, otite externe cronice , otite externe maligne.

Otitele externe acute localizate

Otitele externe acute localizate sunt determinate de **Staphylococcus aureus** si pot fi rezultatul unui furuncul sau pustule ale foliculului pilos . Erizipelul determinat de **Streptococcus** de grup A poate fi gasit in canalul auditiv si in cohlee.

Otitele externe acute difuze

Otitele acute externe difuze mai frecvent sunt cauzate de Pseudomonade , mai ales de **Pseudomonas aeruginosa ,** si alte bacterii aerobe in conditii favorizante cum sunt : patrunderea apei in conductul auditiv extern cu macerarea tegumentului la acest nivel (otita inotatorilor) Ocazional poate fi in cauza **Staphylococcus aures .**

Otitele externe cronice

Otitele cronice externe sunt datorate drenajului prin membrana timpanica perforata .

Otitele externe maligne

Otitele externe maligne sunt infectii ale canalului auditiv extern in general potential mortale. In cele mai frecvente cazuri sunt determinate de **Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus , Proteus mirabilis** , de specii de **Klebsiella** dar au fost izolati si anaerobi . Aceste infectii pot apare la orce pacient , dar sunt mai frecvente la pacientii cu diabet si boli maligne.

Otitele medii

Otitele medii sunt mai frecvente la copii cu numeroase recurente. Este foarte important tratamenul acestor infectii deoarece pot apare complicatii inclusiv riscul pierderii auzului .

Trebuie deasemenea avut in vedere ca cele mai multe infectii auditive medii sunt de origine virala .

Otitele medii acute

Aceste boli, mai frecvente la copii, sunt favorizate de infectii primare cu virusuri respiratorii care, prin congestia si edemul trompei lui Eustachio, blocheaza drenajul normal al cavitatii si eliminarea contaminantilor ocazionali proveniti din microbiota nazo- faringelui . Organismele cauzatoare de infectii sunt **Streptococcus pneumoniae , Haemophylus influenzae** si **Moraxella catharalis** . Mai putin frecvente sunt **Streptococcus de grup A , Staphylococcus aureus . Staphylococcus epidermitis ,** si **bacilii Gram negativi**. **Neisseria lactamica**, comensal in nazofaringe la copii, poate fi implicat in otitele medi .

Otitele medii cronice supurative

Infectiile cronice supurative pot fi foarte distructive, putand determina actiuni ireversibile cum ar fi pierderea auzului. . Frecvent izolate sunt bacteriile anaerobe Gram negative, **Staphylococcus aureus** si specii de **Pseudomonas** . **Pseudomonas aeruginosa** colonizeaza in mod obisnuit canalul auditiv si este rar izolat din urechea mijlocie .

Infectiile micotice

Infectiile micotice ale urechi pot fi infectii superficiale, cronice sau subacute ale canalului auditiv extern . Fungi asociati cu infectiile pot fi **Aspergillus species** , **Scedosporium apiospermum** *(* **Pseudallescheria boydii)** si alte ciuperci .

1.3.3 Semnificatie clinica – secretii vaginale

Cercetarea bacteriologica a secretiei vaginala este practicata in scopul precizarii diagnosticului etiologic al vaginitelor si vulvovaginitelor acute sau cronice, specifice cauzate de fungi si Trichomonas vaginalis sau nespecifice(vaginoze)

Vulvovaginita candidozica ,determinata cel mai frecvent de **C.albicans** (aproximativ 80% din cazuri),urmata de **C.glabrata** (3-5%) din cazuri apare de cele mai multe ori ca infectie endogena.Circumstantele in care apare infctia smptomatica sunt reprezentate de modificari hormonale(sarcina, contraceptive orale),terapie cu antibiotice,corticosteroizi sau citostatice,diabet,stari de imunodepresie.

Vulvovaginita cu **T.vaginalis** este cea mai frecventa infectie cu transmitere sexuala,care evuleaza simptomatic la 75-95% din femeile infectante.Manifestarile clinice sunt reprezentate de :leucoree cu aspect galben -verzui aerat, cu miros neplacut;

Vaginozele bacteriene

Vaginozele bacteriene sunt caracterizate prin cresterea proportiei de germeni anaerobi si scaderea cantitatii de lactobacilli.

Diverse grupuri de organisme sunt implicate in etiologia vaginozelor bacteriene, multe dintre ele fiind dificil de izolat.

Organismele asociate cu vaginoza bacteriana :
- specii de Prevotella
- Gardenella vaginalis
- specii de Mobiluncus
- specii de Peptostreptococus
- Mycoplasma hominis

Desii Gardenella vaginalis poate fi intilnita la femeile cu vaginoza bacteriana, acest organism poate fi izolat la mai mult de 60 % din femeile asimptomatice. Examinarea microscopica a secretiei vaginale prin coloratie Gram este mai relevanta pentru diagnosticul vaginozei bacteriene, decit izolarea Gardenellei vaginalis in cultura.

Examenul microscopic in vaginoze se caracterizeaza prin prezenta bacililor Gram negativi variabili (Gardenella vaginalis , Bacteroides sp) si bacili incurbati gram negativi (Mobilunculles sp) si absenta bacililor gram pozitivi, care constituie flora Doderlein.

Prezenta de ,,clue cells'', celule vaginale superficiale cu contur mascat de o abundenta flora bacteriana prezenta pe suprafata lor, este un aspect sugestiv pentru diagnosticul de vaginoza Examene complementare sustin aceasta etiologie : pH –ul vaginal peste 5 si testul aminelor volatile pozitiv, sugereaza prezenta Garderellei vaginalis.

Sindromul „ socului '' toxic

Sindromul ,, socului'' toxic este o infectie caracterizata prin febra , hipotensiune , rash eritematos , diaree urmata de descuamarea tegumentului . Este cauzata de o toxina produsa de **Staphylococcus aureus**. Izolarea toxinei produsa de Stapylococcus aureus de pe membrana mucoasa este un suport pentru un diagnostic pozitiv . Exista o omologie semnificativa a aminoacizilor in structura toxinei stafilococice si eritrotoxinei streptococice , ceea ce poate explica proprietatile biologice comune acestor toxine si implicarea **streptococului de grup A** in acest sindrom.

Sindromul ,, socului toxic'' este asociat cu:

- folosirea tamponelor absorbante intravaginale;
- infectiile aparute in timpul nasterii sau in cazul altor plagii chirurgicale;
- unele procedee contraceptive;
- colonizarea cervico-vaginala cu Staphylococcus aureus ;

La fetite particularitati ale epiteliului vaginal si ecosistemului la acest nivel fac posibile vulvovaginite cu N.gonorrhoeae, **C trachomatis** sau **Streptococcus pyogenes.**

1.3.4 Semnificatie clinica – secretii uretrale

Cercetarea bacteriologica a secretiei uretrale este practicata in scopul precizarii diagnosticului etiologic al uretritelor acute sau cronice, specifice sau nespecifice .

Manifestarile clinice sunt diferite.

La barbati perioada de incubatie este de 7-20 de zile si uretritele se manifesta mai rar sub forma acuta, de obicei sub forma subacuta si cronica. Manifestarile constau in prurit, usturime, prezenta unei secretii de culoare alb galbuie ,,picatura matinala''. In formele cronice picatura matinala este singura care ne avertizeaza de o posibila infectie.

Complicatiile uretritelor sunt: proctita, prostatita, epididimita, sterilitatea, sindromul Reiter (uretrita, conjunctivita, artrita).

Etiologia uretritelor este reprezentata de germeni ce fac parte din eubioza uretrei: coliformi , proteus, streptococi, enterococi dar si germeni de genul Clamidia trachomatis, Micoplasma hominis, Ureaplasma urealiticum, Gardnerela ;virusuri; protozoare; fungi.

1.3.5 Semnificatie clinica – colectii deschise

Flora bacteriana normala a pielii este relativ putin variata, diferentele reflectand unele deosebiri de igiena , mediu inconjurator, profesiune etc.

Germenul predominant este Staphylococcus epidermitis - in asociere ocazionala cu Staphylococcus aureus - urmat de Corynebacterii nepatogene, enterococi, Streptococcus viridans, Peptostreotococcus si foarte rar Mycobacterium si variati fungi.

Bolile pielii si ale tesutului subiacent sunt dominate de piodermitele stafilococice (foliculita, sicosis, furunculoza, hidrosadenita, panaritiu etc) si streptococice (impetigo, pemfigus, ectima, celulita, erizipel, etc.), singulare sau in asociere, ca manifestare clinica si semnificatie etiologica.

Acneea (juvenila) este cauzata de asocierea stafilococ si Propionibacterium acnes.

Unii germeni pot da nastere la forme specifice de leziuni ale pielii (Bacillus anthracis ,Corynebacterium).Infectiile subacute sau cronice ale pielii pot fi cauzate de germeni din grupul Actinomyces-Nocardia (abcese granulomatoase, celulite profunde) sau Mycobacterium (ulcere,gome etc.).Indiferent de aspectul clinic si sediul leziunii, mecanismul patogen al bolilor pielii consta in cele mai multe cazuri din patrunderea din exterior a germenilor si mai rar ca o manifestare locala a unei boli generale.

Bacteriologia plagilor variaza,in functie de locul anatomic si de mecanismul de producere (traumatism,manopere chirurgicale, arsuri).

Plagile traumatice sunt frecvent infectate cu germenii proprii sau din mediul extern ca: **Streptococcus pyogenes**, **Enterococcus**, **Pseudomonas**, **E. coli**, **Proteus**, **Flavobacterium**, **Acinetobacter**, germeni anaerobi din grupul **Clostridium** si **Bacteroides.**

Infectarea plagilor consecutiv manevrelor chirurgicale variaza in functie de locul anatomic; plagile localizate in regiuni relativ sterile raman de obicei neinfectate, dar uneori pot contine o flora

redusa reprezentata de stafilococi, enterococi, Bacillus, streptococi, germeni proveniti din aeromicroflora sau de pe piele.

In cazul in care manevra s-a facut intr-o zona intens contaminata, infectia poate fi cu greu evitata, situatie in care predomina ca agenti etiologici bacilii gramnegativi ca: **E.coli , Proteus, Pseudomonas, Klebsiella, Serattia, Flavonobacterium, Acinetobacter si Bacteroides**.

Escarele plagilor arse reprezentand un tesut devitalizat favorabil cresterii bacteriilor se infecteaza initial cu germeni de pe piele ca: stafilococi, streptococi si ulterior cu Pseudomonas, Klebsiella, Flavobacterium etc.

1.4 REFERINTE

Dumitru Buiuc, Marian Negut,Tratat de Microbiologie clinica,Editura Medicala,Bucuresti,2008;

Diagnosticul de laborator in microbiologie, Mircea Ioan Popa, Editura Medica, Bucuresti, 2004;

Prof. Dr. V. Bilbie,Prof. Dr. N. Pozsgi, Bacteriologie medicala,Editura Medicala, Bucuresti, 1984;

Metode de laborator - de uz curent - vol II Editura Medicala 1977

1.5 ABREVIERI

N.A

1.6 DEFINITII

Cervicita - inflamarea acuta, subacuta sau cronica a colului uterin

Vaginita - inflamatie acuta sau cronica a mucoasei vaginale

Uretrita - inflamatia mucoasei ureterale.

Prostatita - inflamatie a glandei prostatice; se manifesta prin durere localizata si mictiuni frecvente.

Salpingita - inflamatie acuta, subacuta sau cronica a trompelor uterine, care se extinde , de cele mai multe ori asupra ovarului(anexita).

1.7 CONSIDERATII DE SECURITATE SI PROTECTIE

Operatorul care realizeaza analiza va purta echipament de protectie: halat, manusi si va respecta normele de protectia muncii si de lucru specifice laboratoarelor cu Compartimente de Microbiologie

1.8 ECHIPAMENTE

- microscop ;
- hota cu flux laminar; ;
- termostat ;
- frigider ;
- autoclav ;

Resurse

- ansa ;
- lame microscop ;
- ulei de cedru;
- bec de gaz ;
- baie colorare ;
- lupa ;
- cutii Petri;

Pentru transmiterea rezultatelor se foloseste sistemul informatic al laboratorului .

1.9 REACTIVI SI ALTE SUBSTANTE

- medii de cultura : geloza-sange, agar manitol, geloza lactozata, agar Sabouraud
- eprubete cu bulion simplu steril ;
- materiale de control, reprezentate de tulpini de referinta.
- reactivi pentru coloratia Gram si Giemsa ;

Mediile de cultura sunt medii ,, ready to use'',fiecare lot de medii de cultura care intra in laborator fiind insotite de certificate de calitate , care atesta conformitatea cu cerintele specificate: grosime turnare in placa, ph-ul mediului, sterilitatea, etc.

1.10 PROBA

Este reprezentata de tamponul cu secretie oculara/otica/vaginala/uretrala/din colectii deschise.

1.10.1Recoltarea probelor

Recoltarea se face cu tamponul steril, in functie de indicatiile clinice prezente .

Pentru a asigura calitatea probelor acestea trebuie respectate urmatorele conditii:

1.10.1.1Recoltarea secretiei oculare

- toaleta fetei , care indeparteaza secretiile si exudatul conjunctival;
- terapie antimicrobiana pentru ca reduce sansa izolarii agentulu infectios : corticoterapie pentru care modifica citologia.
- machiaj, care face dificil examenul bacterioscopic .

1.10.1.2Recoltarea secretiei otice

Recoltarea secretiei otice se face cu tamponul steril, avand grija ca acesta sa fie indreptat spre locul leziunii .

De electie prelevarea secretiei otice se face inaintea instituirii tratamentului cu antibiotice.

1.10.1.3Recoltarea secretiei vaginale

Prelevarea secretiilor vaginale se face in primele 10 zile dupa ciclul menstrual sau la solicitarea medicului de specialitate ori de cate ori este nevoie, pe masa ginecologica, din urmatoarele puncte de electie: orificiul glandelor Bartolin, orificiul colului uterin, sacul vaginal posterior.

De electie recoltarea se face inaintea instituirii unui tratament cu antibiotice .

1.10.1.4Recoltarea secretiei uretrale

Prelevarea se face dimineata inainte de mictiune, prin expresia posteroanterioara a uretrei si comprimarea glandului. Picatura de secretie care apare din meatul uretral, se preleveaza cu un tampon steril .

De electie recoltarea se face inaintea instituirii unui tratament cu antibiotice .

1.10.1.5Recoltarea secretiei din colectii deschise

Recoltarea secretiei in colectii deschis se face cu tamponul steril, avand grija ca acesta sa fie indreptat spre locul leziunii .

De electie prelevarea secretiei in colectii deschise se face inaintea instituirii tratamentului cu antibiotice.

Procedeul prelevarii este diferit in functie de localizarea leziunilor si de el depinde stabilirea unui diagnostic microbiologic corect

- recoltarea prin punctionare si aspirare cu seringa sterila – in cazul plagilor profunde insuficient drenate sau fistulizate (in special cele de la nivelul ganglionilor);
- recoltarea cu tampon steril, desi este frecvent folosita, poate ridica probleme de diagnostic microbiologic daca prelevarea se face de la suprafata plagii, din puroi si nu din profunzimea ei din tesut sangerand. Se vor recolta 2 tampoane sterile: unul fara mediu pentru efectuarea frotiurilor colorate Gram si Giemsa, celalalt pentru insamantari pe mediile de cultura;
- prezenta unui volum mare de lichid necesita recoltarea prin aspirare cu seringa sterila, metoda recomandata si in cazul lichidului din abces.

1.10.2 Transportul

Transportul si procesarea probelor se vor face in maxim 2h, dar acest interval de timp poate fi prelungit daca tamponul este prevazut cu mediu de transport

.

2 FORMULAREA PROCEDURII

2.1 GENERALITATII

Principiul biologic care sta la baza examinarii secretiei oculare/otice/ vaginale/uretrale si din colectii deschise consta in recoltarea ,cultivarea , examinarea si identificarea agentului patogen din secretia oculara si testarea sensibilitatii acestuia la antibiotice

2.2 CONTINUTUL PROCEDURII

2.2.1 Pregatire pentru testare

Se pregatesc listele de lucru in care se noteaza : numarul curent al probei, data analizei, ID pacient, analiza, metoda folosita , numele operatorului si celui care valideaza analiza.

Se scot placile Petri cu mediile de cultura din frigider

2.2.1 Tehnica de lucru – examen bacteriologic

Examenul bacteriologic consta in culturi si frotiuri.

2.2.1 Tehnica de lucru – examen microsocopic

In vederea realizarii diagnosticului lamele cu secretii conjunctivale,otice ,secretii purulente, secretii vaginale si uretrale sunt supuse coloratiei Gram si May Grundwald Giemsa.

In cazul secretiilor vaginale si uretrale, pentru depistarea Trichomonas vaginalis se realizeaza si un preparat umed.

Preparat umed

Tamponul sau secretia vaginala recoltata pe valvele ginecologice este descarcata in 0,5 ml solutie salina izotona sterila, incalzita la 37 ° C, din omogenat efectuandu-se un preparat intre lama si lamela, care se examineaza cu putere de marire 100 x, apoi 400x.

Coloratia Gram

Coloratia Gram este una dintre cele mai uzulale coloratii, in bacteriologie, permitand diferentierea bacteriilor gram pozitive de cele gram negative.

Materiale si reactivi; tehnica de lucru

Coloranti si reactivi necesari
- violet de gentiana sol. apoasa 0,2 %;
- solutie Lugol ;
- amestec alcool-acetona;
- fucsina Ziehl diluata 1/10.

Colorarea.

-frotiul se acopera cu solutie de violet de gentiana

-se mentine 1 minut dupa care se inlatura colorantul , se spala frotiul cu apa de robinet.

Mordatarea.

- frotiul se acopera cu solutie Lugol care se mentine 2 minute.

-se varsa si, fara a se spala, se trece la timpul urmator.

Diferentierea (decolorarea).

-se acopera frotiul cu amestecul alcool-acetona si se dau usoare miscari de inclinare lamei, pina cind solutia decoloranta ramine incolora

-se spala frotiul cu dupa 5-10 secunde cu apa de robinet.

Recolorarea.

-frotiul se acopera cu solutie de fucsina Ziehl diluata 1 /10.

-se mentine 30 secunde.

-se spala cu apa de robinet.

-se usuca si se examineaza la microscop cu imersie.

Bacteriile gram-pozitive apar violete, iar cele gram-negative rosii. Leucocitele si celulele tisulare apar cu citoplasma roz si nucleul rosu.

Coloratia Giemsa

Frotiul colorat Giemsa permite stabilirea celularitatii diferentiind hematiile (roz – rosii), de polimorfonucleare neutrofile(granulatii roz, granulatii brune, nucleu violaceu), polimorfonucleare eozinofile(citoplasma roz, granulatii brune, nucleu violaceu), limfocite si macrofage (citoplasma albastra, nucleu violaceu)

Materiale si reactivi; tehnica de lucru

-frotiul uscat si fixat se acopera cu solutie Giemsa si se lasa timp de 20-30 minute;
-se spala cu apa de robinet ;
- se usuca;
-se examineaza la microscop;

Medii de cultura , conditii si microorganisme

Conditii clinice		**Medii standard**	**Incubare**			**Organisme tinta**
			temp	**atmosf**	**timp**	

		geloza singe agar manitol agar sabouraud Mc Conkey	35-37° C	aerobioza	16-24 ore	Streptococii de grup A,B,C,G Staphylococcus aureus Enterobacteriaceae Pseudomonas aeruginosa
Antibiograma si fungigrama pentru germenii patogeni						

Microscopie secretie conjunctivala

In secretia conjunctivala normala putem observa :celule descuamate integre sau pe cale de liza, rare leucocite polimorfonucleare mai mult sau mai putin alterate, rare macrofage.Pot fi prezenti coci ,bacili difterimorfi ,uzual in cantitati reduse, ocazional levuri rotunjite sau inmugurite .Particulele brune cu diametre variabile provin din rimel ,iar particule galbui ,cu diametru de ordinul um ,provin din fond de ten sau pudra.

Se urmareste :

●**Pe frotiul colorat Gram** din exsudatul conjunctival:reactia inflamatorie ,numarul si caracterele morfotictoriale ale microorganismelor.

Prezenta in contextul reactiei inflamatorii a foarte numeroase bacterii monomorfe indica o conjuctivita bacteriana.Diplococii gram negativi "in boabe de cafea "cu dispozitie intracelulara,sunt puternic sugestivi petru cojuctivita gonococica dar rezutatul comunicat in acest stadiu ramine prezumtiv si investigatia trebuie continuata pentru ca :

-circula tulpini de gonococ producatoare de beta lactamaza si multiplu rezistente ;

-sunt semnalate confuzii microscopice intre conjuctivita neonatala cu Moraxella catarrhalis si oftalmia gonococica sau intre Acinetobacter cacoaceticum ,specie rezistenta la penicilina si gonococi.

Numeroase levuri intra si extracelulare sau prezenta filamentelor miceliene indica o conjuctivita fungica.

●**Pe frotiul colorat Giemsa** :detalii citologice fine, prezenta incluziilor chlamidiene sau virale, a unor fungi particulari.

Celulele epiteliale superficiale , majoritare , apar mari inalte si prismatice,iar cele profunde mici ,neregulat pliedrice sau fusiforme.Celule caliciforme sunt globuloase, au citoplasma palida, plina cu picaturi de mucus, si nuceul mai mult sau mai putin deformat.

Reactia inflamatorie este dominata de polimorfonucleare neutrofile in conjuctivitele bacteriene acute.Proportia limfocitelor si macrofagelor creste in conjuctivitele bacteriene cronice sau in conjuctivitele cronice cu etiologie nedeterminata;devin celule predominante in conjunctivitele virale .
In conjuctivitele alergice observam numeroase polimorfonucleare neutrofile si eozinofile, cateva macrofage si mastocite .
In conjunctivitele chlamidiale reactia inflamatorie este mixta, cu polimorfonucleare neutrofile, limfocite si plasmocite.Caracteristice sunt incluziunile chlamidiale bazofile, compacte, care destind celule epiteliale si le deplaseaza nucleul .Sensibiliteatea depistarii incluziilor chlamidiale prin coloratia Giemsa este satisfacatoare in conjuctivitele neonatale, dar semnificativ mai redusa in conjuctivitele adultului .
La pacienti cu conjuctivite adenovirale putem observa, fara a fi patognomonice, incluziuni intranuceare bazofile .
In conjuctivitele erpedice apar celule gigante multinucleate, cu citoplasma balonizata;

Microscopie secretii vaginale

Diagnosticul vaginitelor

●Preparat umed

Tamponul este descarcat in 0,5 ml solutie salina izotona sterila, incalzita la 37 ° C, din omogenat efectuandu-se un preparat intre lama si lamela, care se examineaza cu putere de marire 100 x, apoi 400x.Pot fi obtinute urmatoarele informatii:
●Prezenta unei reactii inflamatorii cand raportul PMN/celule epiteliale este peste 1.Inflamatia este intensa in trichomonaza, mult mai discreta in candidoza si de regula lipseste in vaginoza.
●Depistarea T .vaginalis,flagelat piriform ,putin mai mare decat un leucocit, care poate fi usor recunoscut dupa miscarile sacadate,in diferite directii.Sensibilitatea testului in raport cu depistarea prin cultura este de 0,70-0,90, dupa diversi autori .
●Evidentierea de celule levurice inmugurite si pseudohife ,care apar in candidoza vaginala.Sunt cazuri cand acest diagnosti poate fi stabilit numai prin izolare pe medii de cultura ,sensibilitatea microscopiei fiind de aproximativ 0,55.
●Prezenta de „clue cells"celule vaginle superficiale cu contur mascat de o abundenta flora bacteriana prezenta pe suprafata lor, care reprezinta 20-30% din celulele epiteliale vaginale, aspect sugestiv pentru diagnosticul de vaginoza.Sensibilitatea testului este de 0,65-80,iar specialitatea de 0,80-0,95.Examene complementare sustin aceasta etiologie:pH -ul vaginal peste 5 si testul aminelor volatile pozitiv.

Frotiu colorat Gram

Tamponul este folosit la efectuarea unui frotiu colorat Gram ce permite o apreciere mai exacta a florei vaginale.In conditii normale aceasta este reprezentata de bacili lungi gram-pozitivi,dispusi izolat, in diplo-sau lanturi scurte,care constituie flora Doderlei .In vaginoze flora normala este inlocuita cu bacili gram- variabili (G.vaginalis),Bacteroides si bacili incurbati gram-

negativi.Coloratia gram permite excluderea unor false "clue cells"cu lactobacili aderenti pe suprafata lor,mai greu de diferentat in preparatul umed.Sensibilitatea si specificitatea microscopiei in vaginoze variaza intre 0,80-0,98 in raport cu metoda de diagnostic.

In candidoza vaginala apar celule levurice si pseudomicelii gram-pozitive ,dar la mai putin de 1/3 din cazurile la care Candida poate fi evidentiata prin cultura.

Un al doilea frotiu,colorat Giemsa ,la care recurg unii microbiologi,nu aduce informatii suplimentare fata de preparatul umed,avand o sensibilitate mai redusa de depistare T vaginalis.

Diagnosticul endocervicitelor.

Frotiu colorat Giemsa

Se apreciaza reactia inflamatorie.Semnificativa este prezenta a peste 10PMN/camp microscopic examinat cu obiectiv cu imersie.In aceste conditii este posiba prezenta de dipocloci reniformi gram-negativ,intra-si extracelurari,aspect sugestiv pentru infectia gonococica.

Microscopie secretii uretrale.

Preparat umed

Este indicat pentru depistarea T.vaginalis.La examinare cu cu obiectivul 10x putem observa organismul ca o structura clara,aproximativ cu diametrul unui piocit,antrenata de miscari spasmodice, cu membrana ondulanta.

La pacientii cu fimoza prezenta a numerosi bacili gram negativi pe frotiul direct din exudatul uretral poate fi semnificativa clinic.

Frotiu colorat gram

Se observa celule epiteliale scuamoasa din foseta naviculara, celule ale uroteliului(cuboide mai mici, cu nuceu relativ mare si cu cromatina mai putin densa, si leucocite polimorfonucleare.La 60-90% din pacientii cu uretrita acuta observam mai mult de 4 polimorfonucle /camp microscopic examinat cu imersie.

Prezent extracelulara a florei mixte, gram-pozitive si gram negative,ocazional a catorva celule levurice, in prelevatele din uretra distala este normala.La pacientii simptomaici,citobacterioscopia pune rapid diagnosticul de gonoree cu o eficienta de 0,98 cand se observa intracelular diplococi gram-negativi in „boabe de cafea”,scade la 0,75 in prezenta acestor diplococi numai extracelular si la 0,21cand diplococii gram-negativi sunt extracelulari si cu morfologie atipica.

Frotiu colorat Giemsa

Frotiul colorat Giemsa este putin satisfactor ca metoda de diagnostic: T.vaginalis are marimea unui macrofag, este piriform, cu nucleul situat spre polul anterior:ocazional putem observa si membrana ondulanta.

Microscopie secretii colectii deschise si lichid punctie

Adsorbtia celulelor inflamtorii si a microorganismelor pe fibra de vata denatureaza rezultatele daca efectuarea frotiului este temporizata.Pe o lama de sticla sterilizata prin flambare si racita, se efectueaza extemporaneu frotiul prin rulare usoara,fara apasare, a tamponului pentru a obtine un frotiu subtire si uniform in centrul lamei.Daca leziunea supurativa este de dimensiuni mici, se utilizeaza un tampon umectat in prealabil in solutie salina izotona;Se fixeaza tamponul prin caldura si se coloreaza.

Examenul frotiului colorat Gram

Bacterioscopia cantitativa din exsudatul plagilor si arsurilor.Baleiaza cu marire de 1000x toata suprafata frotiului special pregatit in acest scop. O singura bacterie observata pe frotiu semnifica prezenta a cel putin 10'UFG/g de tesut.Bacteroiscopia cantitativa poate fi practicata si intraoperator cu o eficacitate de 0,96.

Pentru examenele uzuale urmarim si inregistram:

-Piocitele.Uneori le observam numai ca „celule inflamarorii rotunde”,dar pe frotiuri ine colorate granulocitele sunt distincte de limfocite si macrofage.

-Categoria microscopica a bacteriilor .Bacterii foarte numeroase si polimorfe ,care includ streptococi,bacili gram-negativi si gram pozitiv,inclusiv bacili fusiformi,sugereaza o infectie mixta cu bacterii anaerobe.

-Aprecierea semicantitativa a microbilor observati:foarte rari (unul pe 50-100 campuri microscopice),rari (unul pe 10-20 campuri microscopice),numerosi (1-10per camp),foarte numerosi(zeci sau sute per camp).

2.2.3 Pregatire pentru testare

Se pregatesc Fisele de lucru - Microbiologie in care se noteaza: numarul curent al probei, data analizei, numar inregistrare pacient (ID), analiza, numele operatorului si a celui care valideaza analiza.

Se scot placile Petri cu mediile de cultura din frigider, pentru aclimatizare.

2.2.4 Tehnica de lucru

Examenul bacteriologic include cultura pe urmatoarele medii:

- geloza agar cu 5% sange de berbec;
- agar manitol;
- geloza lactozata(Mc Conkey sau AABTL);
- agar Sabouraud cu Chloramfenicol pentru izolarea fungi

Conditii clinice		**Medii standard**	**Incubare**			**Organisme tinta**
			temp	**atmosf**	**timp**	

		geloza singe agar manitol agar sabouraud Mc Conkey	37° C	aerobioza	16-24 ore	Streptococii de grup A,B,C,G Staphylococcus aureus Enterobacteriaceae Pseudomonas aeruginosa
Antibiograma pentru culturi pozitive						

Efectuarea insamantarilor se face pe jumatate de placa prin descarcarea tamponului pe mediile amintite dupa tehnica epuizarii tamponului .Se ruleaza toate fetele tamponului pe un cadran al unei placi cu diametrul de 9 cm,se epuizeaza apoi inoculul cu ansa .

Se creeaza conditii microaerofile care protejeaza de oxidare streptolizina O si permit depistarea de Streptococcus pyogenes neproducatoare de streptolizina S, prin intepare sau scurta sectionare a mediului cu ansa la sfarsitul epuizarii.Se folosesc placi cu un strat mai gros de mediu.

Incubarea culturilor

Se face uzual aerob peste noapte, la 37 C cu prelungire pana la 48 ore daca la prima citire a placilor lipsesc coloniile beta hemolitice caracteristice.

Citirea culturilor si identificarea microorganismelor

Coloniile caracteristice se repica in vederea obtinerrii culturii pure necesare pentru identificarea microorganismelor.

Identificarea microorganismelor din culturile pozitive se face pe baza caracterelor culturale,morfotinctoriale, biochimice ,antigenice si de patogenitate.

- morfologice
- culturale
- biochimice

Identificare Streptococi

Caractere de cultivare :

Pe medii agarizate si suplimentate cu 5% singe de berbec aspectul coloniilor variaza cu specia si mediul de baza utilizat:

●**Sreptococici beta hemolitici de grup A, C si G** au colonii mari(>0,5mm diametru)in general trasparente si pot fii :

-mucoide cu suprafata luciuoasa convexe ,filante ;

- netede luciose (glossy) rotunde acumilate cu margini regulate;

-rugoase,turtite ,uscate cu margini dintate .

●**Streptococii grup B** formeaza colonii alb cenusii, mai putin acuminate, uneori mai mari, mai usor de emulsionat decat ale streptococilor grup A, cu zona ingusta de α ^-hemoliza (β ^-indistincta)Pana la 3% din tulpinile izolate de la om sunt chiar nehemolitice/

●**Streptococii de grup D** formeaza colonii alb-cenusii cu diametru de circa 1 mm, transparente,care se opacifiaza in cultura batrana,nehemolitice sau α hemolitice.

Caractere biochimice :

●streptococii piogeni produc hemoliza de tip beta.

●multiplicarea streptococilor de grup este inhibata de bacitracina.Se apreciaza ca dintre tulpinile de Streptococcus pyogenes , mai putin de 1% sunt rezistente la bacitracina(testul la bacitracina (ILS-01) ;

●streptococii piogeni sunt rezistenti la trimetoprim-sulfametoxazol ;

Caractere microscopice

Streptococii sunt coci gram pozitivi ,sferici sau ovoidali, cu diametrul de circa 1 μm.In prelevatele din leziuni active,intinse si profunde,streptococii piogeni apar sub forma de coci sferici izolati sau in perechi, in timp ce in puroi formeaza lanturi cu diferite lungimi.

Caractere antigenice

Identificarea grupului Lancefield se realizeaza cu Trusa latex aglutinare pentru identificare grup(A,B,C,D,F,G)

Identificare Stafilococcus aureus

Caractere de cultivare:

Aspectul coloniilor

Pe agar cu 5 % sange defibrinat de berbec produc o zona circulara de hemoliza in jurul coloniei.Hemolizina alfa a S.aureus determina hemoliza totala cu clarificarea completa a mediului. .Beta -hemolizina tulpinilor animale de S.aureus,intilnita ocazional si la tulpini umane,determina o

hemoliza de tip "cald -rece":zone de hemoliza incompleta la 37° C ,care ,dupa expunerea culturii citeva ore la 4 ° C devine completa ,similara celei produse de hemolizina alfa (

Pe mediul solid hiperclorurat:colonii galbene,manitol pozitive,ingalbenesc mediul.
Pigment

Prezenta pigmentului carotenoid ,portocaliu sau galben citrin, este o caracteristica relativ constanta a tulpinilor de S.aureus, dar si a unor stafilococi cogulaza- negativi cum sunt :S.saprofitichus, S.homnis,Pigmentarea coloniilor pe mediile nutritive simple sau cu adaus de sange defrinat poate intarzia timp de 24-48 ore in cazul tulpnilor de S.aureus supuse unui tratament nefavorabil dezvoltarii lor(antibiotic, antiseptic, termic;

Diametrul coloniilor:

5-10 mm

Test coagulaza

Identificarea rapida a speciei se face cu ajutorul reactivilor comerciali de aglutinare indirecta. Reactivii sensibilizati cu fibrinogen si Ig G cupleaza coagulaza legata respectiv proteina A din peretele S.aureus, ducand la aglutinarea amestecului dintre reactiv si cultura de S. aureus.

Reactivii care contin in pus anticorpi anti-zaharid capsular asigura identificarea cu un plus de sensibilitate a tulpinilor de s. aureus meticilino-rezistente.

Identificare Enterobacteriaceae

Caractere de cultivare

Pe agar sange :forma "S ":colonii de 2-3 mm ,rotunde, bombate, umede cu suprafata neteda si margini regulate si forma"R':colonii de 2-3mm ,rotunde ,plate cu suprafata rugoasa si marginile neregulate

Unele tulpini dezvolta hemoliza;

Aspecte particulare :

- ●colonii mucoide de 4-5 mm ,rotunde ,bombate,cu margini regulate, tendinta la confloare aspect mucos la repicarea cu ansa (frecvente la **Klebsiella** si **Escherichia**)
- ●colonii pigmentate :pigment rosu**(Serattia spp**)galben (**Enterobacter spp**)
- ●Crestere invanziva :in jurul coloniei se dezvolta zone de mirare concentrice (caracteristica pentru genu**l Proteus**)

Pe geloza lactozata(medii slab selective):colonii lactozo pozitive((pozitive(**Escherichia coli,Enterobacter,Klebsiella**,)si lactozo negative**(Proteus**)

Aspectul coloniilor pe geloza lactozata (Mac ConcKey ,AABTL)

Specia sau grupul	Mac Conkey	AABTL
	Rosu	galben

Escherichia coli		
Enterobacter	Rosu	galben
Citrobacter	Rosu sau necolorat	galben sau verde
Klebsiella	Rosu	galben sau verde
Proteus	Necolorat	verde

Tabel nr. 3 Teste de identificare a Enterobacteriaceelor (tabel scanat)

Genul /specia	**TSI**				**MIU**			Citrat Simmons
	I	**D**	**G**	**H2S**	**M**	**I**	**U**	
Escherichia	Ac	Ac	+(-)	-	+(-)	+	-	-
Citrobacter	Ac(Alc)	Ac	+	+	+	-	-(+)	+
Enterobacter	Ac	Ac	++	-	+	- (+)	-/+	+(-)
Klebsiella	Ac	Ac	++	-	-	-	+ (-)	+
Serratia	Ac(Alc)	- (+)	-	+	+	-	-(+)	+
Proteus vulgaris	Ac (Alc)	Ac	+	+	+	+	+	-(+)
Proteus mirabilis	Alc(Ac)	Ac	+	+	+	-	+	+ (-)
Proteus rettgeri	Alc	Ac	-	-	+	+	+	+
Providencia	Alc	Ac	+ (-)	-	+	+	-	+

+/- = reactie variabila predominent +
-/+ = reactie variabila predomenent –
(+) = rar pozitiva
(-) = rar negativa
Alc = alcalin
Ac = acid
I = partea inclinata
D = partea dreapta

Identificare Pseudomonas

Caractere de cultivare

Pe geloza simpla:

●Colonii de tip 1: mari,2-3 mm diametru rotunde cu centrul bombat ,margini neregulate si tendinta invanziva (aspect de ou prajit);suprafata granulara;consistenta untoasa;dau sunspensii omogene .

●Colonii de tip 2:mai mici convexe ,caale coliformilor;dau suspensii omogene
Colonii de tip 3:convexe,rugoase ;dau sunspensii granulare .

●Colonii mucoide :initial convexe u tmpul tind sa conflueze unele devin apoase,traslucide ;altele cu consistenta gumoase.

●Colonii pitice cultiva dupa 48 -72 de incubare

Cultura are suprafata iridiscenta cu luciu metalic si plaje de autoliza .

Cultura degaja aroma patrunzatoare particulara asemanatoare florilor de asomie .
Pigmentogeneza:pigmenti difuzibili :piocianina (albastru)si pioverdina(galben-verde sau galben brun dau culturii si progresiv,mediului culoare verde stralucitoare .
Alti pigmenti solubili in apa mai rar produsi:piorubrina,piomelanina(brun,brun-negru).

Pe geloza sange : Multe tulpini sunt puternic hemolitice;tardiv coloreaza mediul in brun.
Pe Agar Mac Conkey colonii mici lactozo -negative ,aderente la mediu.

Teste biochimice

TSI:acid din glucoza= pozitiv ; lactozo = negativ:H2S=negativ
MIU :mobilitate = pozitiv ; ureaza= 11-89% din tulpini pozitive ; indol= negativ
MILF :fenilalanindezaminaza=negativ ;lizindecarboxilaza=negativ ;indol =negativ
Citrat:pozitiv

Reactia oxidazei:pozitiva

Caractere microscopice : Coloratia gram nu permite diferentieri intre bacilii gram negativi nefermentativi :sunt bacili fini de 0,3-0,5 µm grosime /1,5-3µm lungime ,dispusi izolat in pereti sau scurte lanturi .

Identificare Candida spp

Caractere de cultivare

Pe mediul agar Sabouraud produc colonii de tip S, rotunde ,bombate , netede, asemanatoare cu unele colonii bacteriene ,dar cu dimensiuni mai mari.Coloniile apar in 1-4 zile,au o cuoare alba sau alb-galbuie si consistenta cremoasa.In timp suprafata coloniilor capata un aspect „zbarcit"

Caractere morfotictoriale

Examenul microscopic al culturilor de levuri (frotiuri colorate Gram si Giemsa) evidentiaza Prezenta levurilor (blastoconidii) rotunde, ovoide sau mai putin alungite, gram pozitive,putand prezenta muguri si pseudomicelii.Prin examenul microscopic se dovedeste si puritatea coloniei.

2.3 CONTROL DE CALITATE

Reactivii necesari pentru efectuarea testului (mediile de cultura , colorantii pentru coloratia Gram si Giemsa) sunt controlati cu tulpini de referinta existente la nivelul Compartimentului de Microbiologie - Parazitologie.

Tulpini de referinta

- **Staphylococcus aureus ATCC 259923**
- **Escherichia coli ATCC 25922**
- **Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853**

aceste controale sunt introduse periodic in lucru (la fiecare lot de medii de cultura, coloranti sau ori de cate ori este nevoie)

Echipamentele sunt verificate (tehnic si metrologic) dupa un program prestabilit.

2.4 PROCESAREA REZULATATELOR

2.4.1 Interpretare rezultate

Se face prin confruntarea datelor obtinute prin microscopie si culturi .

REZULTATUL PROCEDURII

1 Microscopia

Se urmareste reactia inflamatorie,numarul si caracterele morfotinctoriale ale microorganismelor

1.1 Rezultatul la microscopie

In cazuri urgente rezultatul poate fi raportat telefonic

Rezultatul scris , 16-72 ore

Se raporteaza organismele cu semnificatie patogena izolate

Se raporteaza si absenta germenilor :

aportarea rezultatului la cultura

aportare cultura conjunctivala:

Se raporteaza rezultatul prin prezenta /absenta urmatorilor germeni:

Streptococcus pyogenes;
Staphylococcus aureus;
Enterobacteriaceae;
Pseudomonas aeruginosa;
Candida spp.

Raportare secretie otica:

Se raporteaza rezultatul prin prezenta /absenta urmatorilor germeni:
Absent Pseudomonas aeruginosa;
Abent Staphylococcus aureus;

Raportare cultura secretie vaginala:

Se raporteaza rezultatul prin prezenta /absenta urmatorilor germeni:
Streptococcus agalactiae;
Staphylococcus aureus;
Enterobacteriaceae;
Pseudomonas aeruginosa;
Candida spp.

Raportare cultura secretie uretrala:

Se raporteaza rezultatul prin prezenta /absenta urmatorilor germeni:
Staphylococcus aureus;
Staphylococcus saprophyticus;
Enterobacteriaceae;
Pseudomonas aeruginosa;

Raportare cultura din colectii deschise:

Se raporteaza rezultatul prin prezenta /absenta urmatorilor germeni:
Streptococ beta-hemolitic;
Staphylococcus aureus;
Enterobacteriaceae;
Pseudomonas aeruginosa**;**

Raportare cultura din lichid punctie:

e raporteaza rezultatul prin prezenta /absenta urmatorilor germeni:
Streptococ beta-hemolitic;
Staphylococcus aureus;
Enterobacteriaceae;
Pseudomonas aeruginosa**;**

In cazuri urgente rezultatul poate fi raportat telefonic
Rezultatul scris , 16-72 ore

a sau fungigrama

Se realizeaza antibiograma sau fungigrama pentru microorganismele cu semnificatie clinica

2.5 VALIDARE

Validarea tehnica a rezultatelor este realizata de catre operator.

Validarea bioanalitica a rezultatelor este realizata de catre Seful de Laborator

2.6 RAPORTARE

- Comunicarea rezultatelor se face conform 2.4

  - in baza de date a Laboratorului;
  - pacientului si medicului curant
  - rezultatele urgentelor se transmit telefonic si se noteaza in Registrul anunturi

- Elaborare buletin de analiza

3 ALTE INFORMATII

N.A

4 RESPONSABILITATI

C adre cu studii superioare

5 FORMULARE, DOCUMENTE, INREGISTRARI RELEVANTE

5.1 Fisa de lucru secretii oculare, otice, vaginale, uretrale, din colectii deschise - cultura FSL -12 -01

5.2 Fisa de lucru secretii oculare, otice, vaginale, uretrale, din colectii deschise - microscopie FSL -12 -02

6 ANEXE

Buletin de analiza,

INDICATORUL MODIFICARILOR

Revizia	Intocmit	Verificat	Aprobat	Data aprobarii	Puncte modificate
0	Biol. Sp. Daniela Marghidan Biol.Sp Florina Gheorghe	Manager Calitate Biol.Sp. Daniela Marghidan	Sef Laborator Dr. Nicoleta Buica	01.05.11	Document nou

Sfarsit document

ANTIBIOGRAMA

1 INTRODUCERE
- **1.1 SCOP**
- **1.2 DOMENIUL**
- **1.3 SEMNIFICATIA CLINICA**
- **1.4 REFERRINTE**
- **1.5 ABREVIERI**
- **1.6 DEFINITII**
- **1.7 CONSIDERATII DE SECURITATE SI PROTECTIE**
- **1.8 ECHIPAMENTE**
- **1.9 REACTIVI SI ALTE SUBSTANTE**
- **1.10 PROBA**

2 FORMULAREA PROCEDURII
- **2.1 GENERALITATI**
- **2.2 CONTINUTUL PROCEDURII**
- **2.3 CONTROL DE CALITATE**
- **2.4.PROCESAREA REZULTATELOR**
- **2.5 VALIDARE**
- **2.6. RAPORTARE**

3 ALTE INFORMATII
4 RESPONSABILITATI
5 FORMULARE, DOCUMENTE, INREGISTRARI
6 ANEXE

Autor	Verificat	Aprobat	Data aprobării
Biol. Sp. Daniela Marghidan Biol. Sp. Florina Gheorghe	Manager Calitate Biol.Sp. Daniela Marghidan	Sef Laborator Dr. Nicoleta Buica	
			04,2011

LISTA DE DIFUZARE ŞI RETRAGERE

Nr. Crt.	**Nume prenume**	**Exemplar controlat nr.**	**difuzării/**	**Mod difuzare**		**Obser-vatii***	**Data retragerii/ Semnatura**	**O v**
				Tiparit	**Elec-tronic**			

a) Se va trece daca se documentul este difuzat/retras partial sau total

1 INTRODUCERE

1.1 SCOP

Scopul acestei proceduri este de a descrie metoda de apreciere a sensibilitatii germenilor la antibiotice prin tehnica difuzimetrica standardizata Kirby-Bauer.

1.2 DOMENIUL

Procedura este utilizata la nivelul Laboratorului de Analize Medicale din cadrul S.C. MUNTENIA MEDICAL HOSPITAL S.A

1.3 SEMNIFICATIE CLINICA

Antibiograma difuzimetrica are importanta terapeutica, fiind indicata in infectii bacteriene.

Antibiograma este una din cele mai frecvente examinari fiind solicitata pe multiple considerente de ordin : clinic , epidemiologic si de cercetare .

In scop clinic antibiograma este necesara pentru alegerea sau realegerea agentului antimicrobian cel mai indicat pentru o infectie data, provocata de germeni cu o crestere rapida a caror sensibilitate nu poate fi prevazuta.

In mod deosebit este necesara efectuarea antibiogramei in infectii cu stafilococi, enterococi, enterobacterii, bacili gram negativi nefermentativi, cu conditia ca rolul etiologic sa fie precis stabilit iar infectia respectiva sa necesite un tratament antimicrobian .

Antibiograma poate fi inutila pentru unii germenii a caror sensibilitate la unul sau mai multe antibiotice este previzibila cum ar fi **Streptococcus pyogenes, Neisseria meningitidis** .De subliniat totusi ca asfel de situatii devin tot mai rare odata cu semnalarea de tulpini bacteriene din speciile respectiva rezistente la antibiotice de electie.

In scop epidemiologic antibiograma se practica in cadrul unui plan global de supraveghere a evolutiei spectrului de antibiotip, de urmarire a emergentei de tulpini rezistente la medicamentele de electie si de rezerva si pentru controlul difuziunii tulpinilor multilu rezistente.

CATEGORII DE SENSIBILITATE

Testarea activitatii in vitro a antibioticelor urmareste orientarea in alegerea terapiei adecvate pentru un pacient .

Relatia in vitro, microorganism – antibiotic se defineste prin concentratie minima inhibitorie (CMI) .

CMI este cea mai mica concentratie de antibiotic care inhiba multiplicarea bacteriilor .

O tulpina este **sensibila** cand CMI a antibioticului este de minimum 2-4 ori mai mica decat concentratia serica obtinuta dupa administrarea unor doze utilizabile in terapie .

O tulpina este **rezistenta** cand CMI a antibioticului este mai mare decat nivelul seric . Efectul terapeutic se obtine cu doza meri, toxice pentru pacient .

O tulpina este **intermediara** sau moderat sensibila cand CMI este opropiat de nivelul seric . Efectul terapeutic se obtine cu doze mari (pe cale generala , cand antibioticul este netoxic) sau printr-o concentratie fiziologica particulara in focarul infectios (exemplu : urina).

Termenii de sensibil, intermediar si rezistent sunt folositi pentru a indica daca agentul antimicrobian poate fi utilizat in terapia antimicrobiana

1.4 REFERINTE

D.Buiuc,M. Negut,Tratat de microbiologie clinica ,Editura Medicala 1999

Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Clinical Laboratory Standards Institute 2010.

De la antibiograma la prescriptie, Francois Jehl, MonicueChomarat, Michele Weber, Alain Gerard, , Editura Stiintelor Medicale, 2003

Metode de laborator - de uz crent - vol II Editura Medicala 1977

Diagnosticul de laborator in microbiologie, Mircea Ioan Popa, Editura Medica, Bucuresti, 2004

Bacteriologie medicala, Prof. Dr. V. Bilbie si Prof. Dr. N. Pozsgi, Editura Medicala, Bucuresti, 1984

Microbiologie Medicala, Dumitru Buiuc, Editura Didactica si Pedagocica, Bucuresti, 1992

1.5 ABREVIERI

ATCC - American Type Culture Collection
CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute
NCCLS - National Committee for Clinical Laboratory Standards
NCTC - National Collection of Type Cultures
S - sensibil
I - intermediar
R - rezistent
CMI - concentratia minima inhibitory
mg/l - miligram/litru

1.6 DEFINITII

Antibiograma reprezinta testarea sensibilitatii unei tulpini bacteriene la agenti antimicrobieni .

1.7 CONSIDERATII DE SECURITATE SI PROTECTIE

Operatorul care realizeaza analiza va purta echipament de protectie: halat, manusi si va respecta normele de protectia muncii si de lucru specifice laboratoarelor cu compartimente de bacteriologie

1.8 ECHIPAMENTE

- termostat ;
- Hota cu flux laminar
- etuva.

Resurse

- bec de gaz ;
- ansa ;
- eprubete sterile ;
- tampon de vata steril ;
- pensa sau dispencer ;
- rigla ;
- placi Petri

Pentru transmiterea rezultatelor se foloseste sistemul informatic al laboratorului .

1.9 REACTIVI SI ALTE SUBSTANTE

- mediu de cultura Muller-Hinton ;
- bulion glucozat ;
- truse cu discuri de antibiotice.

Mediile de cultura sunt medii ,, ready to use",fiecare lot de medii de cultura care intra in laborator fiind insotite de certificate de calitate , care atesta conformitatea cu cerintele specificate: grosime turnat in placa, ph-ul mediului, sterilitatea, etc.

1.10 PROBA

Proba este reprezentata de colonii identice din cultura pura a microorganismului de testat suspendate in aproximativ 5 ml bulion simplu steril . Tulpina bacteriana patogena, trebuie sa fie proaspata de 24 ore - 48 ore.

1.4 MATERIALE DE CONTROL

Materialele necesare pentru efectuarea testului(mediile de cultura, microcomprimatele) sunt controlate cu tulpini de referinta existente la nivelul Laboratorului de Analize Medicale - Compartiment Microbiologie Parazitologie, avand in vedere standardele CLSI (NCCLS),

Tulpini de referinta:

- **Staphylococcus aureus ATCC 25923**
- **Escherichia coli ATCC 25922**
- **Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853**

Aceste controale sunt introduse periodic in lucru (la fiecare lot de medii de cultura/ microcomprimate sau ori de cate ori este nevoie)

Echipamentele sunt verificate (tehnic si metrologic) dupa un program prestabilit.

2 FORMULAREA PROCEDURII

2.1.1 GENERALITATI

Prin depunerea microcomprimatelor (discului) cu antibiotice la suprafata unui mediu solid insamantat cu suspensia bacteriana de testat, substanta antimicrobiana activa difuzeaza in mediu si realizeaza in jurul discului o zona de inhibitie a culturii in functie de sensibilitatea culturii bacteriene.

Germenele insamantat nu creste in aria in care concentratia de antibiotic depaseste concentratia minima inhibitorie .

2.2 CONTINUTUL PROCEDURII

2.2.1 PREGATIRE

Se pregatesc Fisele de lucru de lucru in care se noteaza : numarul curent al probei, data analizei, ID pacient (numar inregistrare pacient), analiza, numele operatorului .

Se scot placile Petri cu mediile de cultura din frigider.

2.2.2 TEHNICA DE LUCRU

1)Se insamanteaza in tubul cu bulion nutritiv inocul prelevat ce ansa din cca 5 colonii bine individualizate,reprezentative pentru bacteria testata.Se incubeaza la 37 □ C pana la turbiditatea culturii corespunzatoare etalonului 0,5 Mc Farland (uzual 3-5 ore)Din momentul etalonarii placile trebuie inoculate in maximum 15 minute.

Se procedeaza identic cu tulpina de referinta.

In intervalul de incubare al inoculului :

2)Se scoate din refrigerator ambalajele cu discuri antimicrobiene si se mentin inchise etans, timp de 1-2 ore la temperatura camerei pentru echilibrar termica.Se evita astfel condensarea vaporilor de apa pe discurile reci.

3)Se usuca suprafata agarului Mueller -Hinton mentinand placile cu capacul intredeshis timp de 20-30 minute la 37 □ C.

4)Isamantarea placilor.Se imerseaza tamponul de vata in suspesia bacteriana etalonata. Se scurge excesul de lichid prin rotirea ferma a tamponului pe peretele tubului.Se descarca tamponul in striuri paralele peste toata suprafata mediului succesiv in 3 directii prin intoarcerea placii cu 60 □ .In final se parcurge cu varful

tamponului toata circumferinta mediului la limita cu sticla.In acest mod inoculul este dispersat uniform.

5)Se lasa placa insamantata timp de 3-5 minute (niciodata mai mult de 15 minute)pentru adsorbtia inocului.

6)Se depun discurile cu substante antimicrobiene la distante de minimum 15 mm de marginea placii si 30 mm intre centrele a dua discuri vecine folosind o pensa sau un dispozitiv mecanic de asezare simultana a 6 sau mai multe discuri.

Se preseaza ferm ,cu pensa fiecare disc pe suprafata mediului.

7)Se incubeaza imediat placile la 37 □ C pentru 16-18 ore.Este contraindicata asezarea in incubator a mai mult de 2-3 placi una peste alta.

Fiecare din componentele, care concura la efectuarea antibiogramei, pot influenta diametrul zonei de inhibitie si deci criteriile de interpretare .

a) Mediul de cultura

Mediul de cultura folosit este geloza Muller Hinton (MH) care are o valoare nutritiva care permite cresterea unei mari varietati de germeni si nu contine inhibitori ai actiunii unor substante antimicrobiene .

Mueller Hinton este mediul pe care pe care sunt determinate criteriile interpretative de sensibilitate ale Clinical Laboratory Standards Institute(fost National Laboratory Standards),USA la care se apeleaz in continuare.

Caracteristici tehnice :

- grosimea stratului de geloza este de 4mm turnat in placi cu fundul plat ;
- pH 7,2- 7,4;
- placile turnate sunt pastrate la frigider ;
- inainte de utilizare placile se scot din frigider si se lasa pe masa timp de cel putin 20 minute, pentru echilibrare termica ;

Pentru determinarea sensibilitatii la antibiotice se poate utiliza si geloza sange pentru enterococi si stafilococi.

b) Inoculul

Inoculul trebuie sa :

1.

- reflecte cat mai fidel proportia variantelor rezistente selectabile in cursul terapiei antimicrobiene ;
- sa fie o cultura pura ;
- sa aibe o anumita densitate de organisme in faza logaritmica a cresterii;Fiecare dintre aceste condiii are o anumita pondere in reproductibilitatea rezultatelor si relevanta lor clinica ;

Germenele de testat trebuie sa fie germenele responsabil de boala in cauza si fata de care se doreste instituirea unui tratament .

Densitatea si varsta inoculului influenteaza puternic momentul intrari culturii testate in faza critica si prin aceasta afecteaza rezultatele testari.Testarea se face cat mai

curand dupa izolarea din cultura pura.Cultura obtinuta dintr-un inocul mai dens intra mai repede in faza critica.In consecinta diametrul zonei de inhibitie va fi mai mic;Densitatea recomandata este de10^8UFC/ml
conforma cu standardul nefelometric 0,5 Mc Farland.

c) Incubatia

Timpul si temperatura. Perioada standard de 16-18 ore la 35- 37 □ C corespunde incubarii uzuale « peste noapte » **;**Prelungirea periodei de incubare scade reproductibilitatea rezultatelor.

La testarile pe mediile agarizate nu se incubeaza mai mul de 3 placi una peste alta.

Restrictiile de timp se extind si la etalonarea inoculului si insamantare.Se apreciaz ca in testele difuzimetrice periodele maxime acceptate sunt:pentru etlonarea inocului 15 minute , pentru aplicarea discurilor5-15 minute,pentru plasarea placilor in termostat 15 minute.

Atmosfera de incubare. Laboratorul nostru testeaza numai germenii aerobi care cresc repede pe mediul de cultura utilizat, in conditile obisnute de incubare.(fara CO2)

SELECTAREA SUBSTANTELE ANTIMICROBIENE

Este indicat sa se faca testari cu un numar restrans de substante test selectate pentru grupe largI de microorganisme constituite pe baza paricularitatilor de sensibilitate ale unor categorii microscopice(stafilococi, streptococi, bacil gramnegativi,)eventual a unor specii sau grup de specii(enterococi, hemofil, pseudomonade) sau a particularitatlor focarului de infectie(izolatele urinare).

Pentru grupele de antibiotice cu activitate antimicrobiana similara « in vivo »si in « vitro »
se alege un singur reprezentant (tetracicilina pentru toate tetraciclinele).Exceptie fac acele grupe in care prin semisinteze a fost modificata sensibilitatea la enzimele de inactivare si au aparut modulari ale spectrului antimicrobian:noile aminoglicozide, noile β-lactamine pentru care sunt necesare mai multi reprezentanti(1-2 rprezentanti pentru fiecare generatie de cefalosporine).

In general,este de preferat ca dintr-o grupa de antimicrobiene sa se selecteze:antibioticul mai putin activ fata de patogeni comuni, pentru ca impactul clnic alrezultatelor false este diminuat : o falsa rezistenta comunicata este mai putin grava decat o falsa sensibilitate.

Discurile impregnate cu o cantitate fixa de antibitic au un diametru de 6 mm , si sunt marcate clar pe ambele fete cu simbolul antibioticului respectiv .

Conservarea microcomprimatelor se face prin mentinerea lor la adapost de caldura, lumina si umiditate .

Microcomprimatele pastrate la frigider – inainte de utilizare – se lasa la temperatura camerei timp de o ora pentru echilibrare termica ;

Preparatele cu valabilitatea depasita sau fata de care germenii dau zone de inhibitie sub limitele permise nu sint utilizate .

CITIREA SI EXPRIMAREA REZULTATELOR

Se supun citirii numai placile care prezinta o cultura corespunzatoare din punct de vedere al puritatii si al densitatii (cultura densa aproape confluenta) .

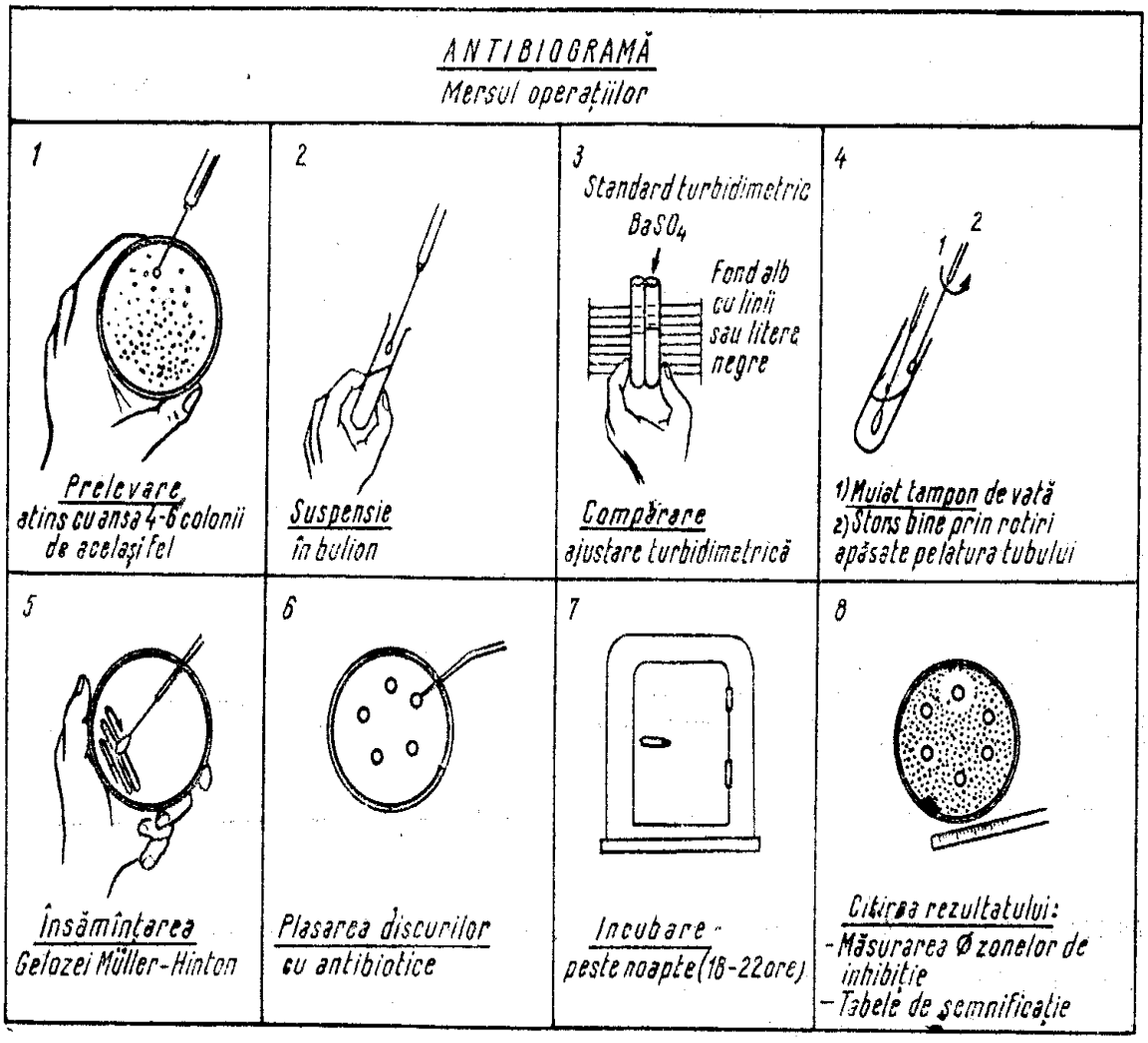
Citirea se face cu ochiul liber , masurand diametrul zonei de inhibitie in mm , de 2-3 ori in directii diferite , cu ajutorul unei rigle .Daca mediul este transparent , citirea se poate efectua direct pe fundul placii , iar pe placile cu geloza sange masurarea diametrelor zonei de inhibitie se face la suprafata mediului .

Se iau in considerare diametrul zonelor de inhibitie (zona lipsita de colonii microbiene vizibila cu ochiul liber) inclusiv diametrul discului cu antibiotic , fara a lua in considerare coloniile foarte mici , vizibile doar cu lupa sau invazia ulterioara a zonei de inhibitie , prin extinderea in suprafata produsa de Proteus , si nici o crestere mai discreta in interiorul zonei de

inhibitie , care se produce deseori in cazul discurilor cu sulfamida sau cu cotrimoxazol .

.

Incubarea se face la 37 □ C , in pozitie rasturnata , in conditii de aerobioza Durata incubarii este de 16-18 ore ; numai in cazuri urgente se va face o citire cu



caracter preliminar , dupa 4-6 ore , cu obligatia de a reincuba si de a efectua o citire definitiva la sfirsitul perioadei reglementare de incubare .

In cazul antibiogramei difuzimetrice interpretarea rezultatelor S,I,R, se face conform standardului CLS.

Exprimarea rezultatelor în buletin se face prin: sensibil (S), intermediar (I), rezistent (R),în funcţie de diametrul zonei de inhibiţie.

INDICATIILE SI CONTRAINDICATIILE ANTIBIOGRAMEI DIFUZIMETRICE

Regule generale : se supun testarii , numai germenii al caror rol in producerea imbolnavirii este absolut cert si care au fost izolati in cultura pura .

Se testeaza prin antibiograma numai acele specii a caror concentratie minima inhibitorie nu este considerata ca o constanta dinainta previzibila (este considerat ca este inutila efectuarea antibiogramei pentru streptococul □ hemolitic)

Se testeza prin antibiograma doar germenii cu dezvoltare rapida , nu se testeaza germenii cu dezvoltare lenta sau cu pretentii deosebite .

Este o contraindicatie absoluta (indiferent de solicitarea clinicianului) efectuarea antibiogramei direct din produsele pluricontaminate (exudat faringian , secretie vaginala) .

SURSE DE INCERTITUDINE

Pot fi reprezentate de urmatoarele situatii:

- folosirea unor medii nepotrivite: prea uscate , vechi ,alterate,cu grosime necorespunzatoare(prea groase sau prea subtiri) sau cu pH necorespunzator(prea acid sau prea alcalin);
- folosirea de microcomprimate (discuri) degradate ;
- folosirea unui inocul nestandardizat ;
- tamponul inmuiat in suspensia bacteriana nu este bine stors;
- depasirea intervalelor de timp (intre prepararea inoculului si insamintare ; intre insamantare si aplicarea microcomprimatelor ; prelungirea perioadei de predifuziune) ;
- incubarea in atmosfera de CO2 sau incubarea pe o durata insuficienta ;
- testarea de culturi mixte , produse pluricontaminate sau de germeni cu dezvoltare lenta ;
- citirea insuficient de exacta a diametrelor zonelor de inhibitie sau transcriptia eronata a diametrelor critice ;
- lipsa controlului de calitate ;
- intarzierea momentului critic al culturii:incubare in teancuri mai mari de 3 placi sau incubare la temperatura inferioara celei prescrise.

2.3 CONTROLUL DE CALITATE

Tulpini de referinta

- **Staphylococcus aureus ATCC 259923**
- **Escherichia coli ATCC 25922**
- **Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853**

Aceste controale sunt introduse periodic in lucru.

Echipamentele sunt verificate (tehnic si metrologic) dupa un program prestabilit.

2.4 PROCESAREA REZULTATELOR

Antibiograma este o metoda de apreciere a sensibilitatii unei tulpini bacteriene la agenti antimicrobieni ,, in vitro''.

Se noteaza diametrele zonelor de inhibitie ale fiecarui antibiotic.

Exprimarea rezultatelor in buletin se face prin transcriptia directa a diametrului zonei de inhibitie in categorii de tulpini sensibile, rezistente sau intermediare.

Dimensiunea zonei de inhibitie nu traduce intotdeauna destul de fidel sensibilitatea unui germen

2.5 VALIDARE

Validarea tehnica a rezultatelor este realizata de cadre cu studii superioare.

Validarea bioanalitica a rezultatelor este realizata de catre Seful de Laborator.

2.6 RAPORTAREA REZULTATELOR

- Comunicarea rezultatelor se realizeaza conform 2.4.

- in baza de date a Laboratorului;
- pacientului si medicului;
- rezultatele urgentelor se transmit telefonic si se noteaza in Registrul telefonic

- Elaborare buletin analiza

3 ALTE INFORMATII

N.A

4 RESPONSABILITATI

Cadre cu studii medii si superioare

5 FORMULARE , DOCUMENTE ,INREGISTRARI

5.1 Fisa de lucru - Urocultura FSL - 10 - 01
5.2 Fisa de lucru - Exudat faringian, exudat nazal FSL - 11 - 01

5.3 Fisa de lucru - Secretie oculara, otica, vaginala, uretrala, din colectii deschise, lichid de punctie FSL - 12 - 01

6 ANEXE

6.1 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Clinical Laboratory Standards Institute 2010.

6.2 Buletin de analiza

7 INDICATORUL MODIFICARILOR

Revizia	Intocmit	Verificat	Aprobat	Data aprobarii	Puncte modificate
0	Biol. Sp. Daniela Marghidan Biol. Sp. Florina Gheorghe	Manager Calitate Biol.Sp. Daniela Marghidan	Sef Laborator Dr. Nicoleta Buica	01.04.11	Document nou

Sfarsit document

ICS 11.100

SR ISO 15190

Octombrie 2005

STANDARD ROMAN

Laboratoare medicale
Cerinte pentru securitate

IDT ISO 15190:2003

Medical laboratories
Requirements for safety

Laboratoires de medecine
Exigences pour la securite

APROBARE Aprobat de Directorul General al ASRO la 30 octombrie 2005

Standardul international ISO 15190:2003 are statutul unui standard roman

CORESPONDENTA Acest standard este identic cu Standardul international ISO 15190:2003

This standard is identical with the International Standard ISO 15190:2003

La presente norme est identique a la Norme Internationale ISO 15190:2003

ASOCIAJIA DE STANDARDIZARE DIN ROMANIA (ASRO)
Str. Mendeleev nr. 21-25, cod 010362, Bucuresti Director
General: Tel.: +40 21 316 32 96, Fax: +40 21 316 08 70
Direc{ia Standardizare: Tel. +40 21 310 17 30, +40 21 310 43 08, +40 21 312 47 44, Fax: +40 21 315 58 70
Directia Publicatii- Serv. Vanzari/Abonamente: Tel. +40 21 316 77 25, Fax + 40 21 317 25 14, +40 21 312 94 88
Serviciul Redactie-Marketing, Drepturi deAutor +4021 316.99.74

©ASRO Reproducerea sau utilizarea integral sau partial^ a prezentului standard fn orice publicatii si prin orice procedeu (electronic, mecanic, fotocopiere, microfilmare etc.) este interzisa daca" n'u exista acordul scris al ASRO

Preambul national

Acest standard reprezinta versiunea romana a textului în limba engleza a standardului international ISO 15190:2003.

Acest standard international specifică conditiile necesare pentru stabilirea si men|inerea unui mediu de lucru sigur într-un la borator medical.

Deşi acest standard international nu are ca scop asigurarea directivei de acreditare, poate fi utilizat în astfel de scopuri de catre un organism guvemamental, profesional sau de catre alta autoritate.

Corespondenta dintre standardele europene respectiv intemationale la care se face referire si standardele romane este urmatoarea:

EN ISO 15189:2003 IDT SR EN ISO 15189:2003
Laboratoare medicate. Cerinje specifice de calitate si competenta

Pentru aplicarea acestui standard se utilizeaza standardele europene respectiv internationale la care se face referire (respectiv standardele romane identice cu acestea).

Simbolul gradului de echivalenta (IDT-identic), conform SR 10000-8.

Standardele europene respectiv intemationale care nu au fost adoptate ca standarde romane pot fi consulate sau comandate la Asociatia de Standardizare din Romania.

S-au introdus NOTE NATIONALE care explica termeni utilizati si pentru o mai buna întelegere a textului.

Cuvintele "standard international" din prezentul standard trebuie citite "standard roman".

Versiunea romană

Laboratoare medicale
Cerinte pentru securitate

Cuprins

Pagina

Preambul 3
Introducere 4
1 Domeniu de aplicare 5
2 Referinte normative 5
3 Termeni si definitii 5
4 Clasificarea grupelor de rise 7
5 Cerinte de management 8
5.1 Responsabilitati de management 8
5.2 Managementul stării de sanatate a personalului 8
6 Proiectare conditii de securitate 8
6.1 Consideratii preliminare 8
6.2 Cerinte generale de proiectare 8
6.3 Conditii fizice 9
7 Personal, proceduri, documentatie, inspectii si înregistrari 10
7.1. Responsabilul cu securitatea laboratorului 10
7.2 Proceduri 10
7.3 Audituri si inspectii pentru programul de securitate 11
7.4 Manual de securitate 12
7.5 Înregistrari 12
8 Identificare pericole 13
9 Raportare incidente, raniri, accidente si boli profesionale 13
10 Instruire 13
11 Responsabilitatile personalului 14
11.1 Alimente, bautura si produsele similare 14
11.2 Cosmetice, păr, barba si bijuterii 14
11.3 Situatia vaccinarilor 14
11.4 Proprietatea personala 14
11.5 Decoratiuni festive 14
12 Imbracaminte si echipament personal de protecjie (PPE), inclusiv manusi, obiecte pentru protectia ochilor, fetei, picioarelor şi a respiratiei 15
12.1 Îmbracamintea de protectie din laborator 15
12.2 Îmbracamintea de protectie în afara laboratorului 15
12.3 Protectia corpului si a feţei 15
12.4 Manusi 15
12.5 Incaltaminte 16
12.6 Protecţia respiratiei 16
12.7 Spalarea mâinilor 16
12.8 Instruirea 17
12.9 Echipament 17
12.10 Puncte pentru spalarea ochilor 17
12.11 Dusuride urgenta 17
13 Buna practica in asigurarea curateniei 18

14 Desfasurarea activitatii în condit,ii de securitate 18
14.1 Desfaşurarea activitaţii în conditii de securitate cu toate materialele de origine biologica.... 18
14.2 Cerinte speciale pentru activitatea în laboratoarele de microbiologie....19

15 Aerosoli 19
16 Cabinete de securitate microbiologica, hote şi cabinete de securitate chimica ... 20
17 Securitatea chimica 20

17.1 Masuri de evitare a contaminarii chimice 20
17.2 Masuri de urgenta aplicabile în cazul producerii contaminarii chimice 21
17.3 Indepartarea substantelor chimice.... 21
18 Securitate faţa de radiaţli.... 21
18.1 Radionuclizi. 21
18.2 Consilieri, responsabili şi inspectori pentru protectia fata de radiatii.. 22
18.3 Monitorizarea spatiuluide lucru.... 22
18.4 Surse de lumina UV şi laser (inclusiv lumina din alte surse de mare intensitate) 22
18.5 Echipamentcu microunde.... 23
19 Protectia fata de incendii.... 23
19.1 Constructia.... 23
19.2 leşiri secundare 23
19.3 Sistemede alarma.... 23
19.4 Strategii de reducere a riscului de producere a incendiilor.... 23
19.5 Depozitarea substantelor inflamabile 24
19.6 Programe de instruire pentru protectia faţa de incendii.... 24
19.7 Echipamentul pentru stingerea incendiilor 24

20 Evacuari în caz de urgenta .... ; 25
21 Echipament electric 25
22 Transport probe.... 25
23 Eliminarea deşeurilor.... 26
Anexa A (informative) Schema planului de actiune pentru implementarea acestui 27
standard international.... 27
Anexa B (informativa) Auditul pentru securitatea laboratorului.... 29
Anexa C (informativa) Decontaminare, curatenie §i dezinfectie dupa varsarea unui produs 39
Bibliografie.... 41

Preambul

ISO (Organizatia Internationale de Standardizare) este o federatie mondiala de organisme nationale de Standardizare (comitete membre ale ISO). Elaborarea standardelor internationale este, în mod normal, încredintata comitetelor tehnice ale ISO. Fiecare comitet membru interesat într-o tematică pentru care a fost stabilit un comitet tehnic are dreptul sa facă parte din acel comitet. Organizaţiile internationale, guvernamentale şi neguvernamentale, care întretin legaturi cu ISO, participă de asemenea la lucrări. ISO colaboreaza strans cu Comisia Electrotehnica Internațională (CEI) în ceea ce priveste standardizarea în domeniul electrotehnic.

Standardele internationale sunt elaborate in conformitate cu regulile din Directivele ISO/CEI, partea 2.

Sarcina principală a comitetelor tehnice este sa pregatească Standardele Internationale. Proiectele standardelor internationale adoptate de comitetele tehnice sunt supuse votului comitetelor membre. Publicarea lor ca standarde Internationale necesita aprobarea a minimum 75% din comitetele membre care au votat.

Se atrage atentia asupra posibilitatii ca anumite elemente ale acestui document sa faca subiectul drepturilor de autor. ISO nu trebuie considerată responsabila pentru identificarea unora sau a tuturor drepturilor de autor.

ISO 15190 a fost elaborat de comitetul tehnic ISO/TC 212, ***Laboratoare clinice de analize şi sisteme de diagnostic in vitro*** .

Introducere

Acest standard international specifică cerintele necesare pentru stabilirea si mentinerea unui mediu de lucru sigur într-un laborator medical. Ca în orice astfel de lucrari privind securitatea, exista cerinte care sa garanteze ca exista o persoana desemnata, cu responsabilitate finală si că toţi angajatii au responsabilitati personale pentru:

- propria securitate la locul de munca şi,
- securitatea celorlalti care poate fi afectata de aceasta.

Fiecare sarcina necesită evaluarea riscului, cu scopul eliminarii pericolelor ori de cate ori este posibil. Cand acest lucru nu poate fi realizat, riscul asociat fiecarui pericol este redus la minimum, utilizand urmatoarea ordine a prioritatilor:

a) prin substituţie;

b) prin restrictionare; sau

c) prin utilizarea masurilor şi a echipamentului personal de protecţie

Securitatea reprezinta consideratia primara; costul prezinta importanţa secundara.

De§i acest standard international este destinat utilizarii în toate disciplinele recunoscute in mod curent ale serviciilor de laborator medical şi alte servicii si discipline îl pot considera util si adecvat. Cu toate acestea, laboratoarele medicale care manipuleaza agenti patogeni umani ce necesita niveluri de risc 3 şi 4, pot avea nevoie de conditii suplimentare de asigurare a securitatii.

Deşi acest standard international nu are ca scop fumizarea unui ghid pentru acreditare, acesta poate fi utilizat în astfel de scopuri de catre un organism guvernamental, profesional sau de catre alta autoritate.

Reglementarile sau ghidurile intemationale, naţionale sau regionale pot recurge la subiecte specifice cuprinse în acest standard international.

1 Domeniu de aplicare

Acest standard international specifică cerinţele pentru desfasurarea activitatii din cadrul unui laborator medical în conditii de securitate.

2 Referinte normative

Urmatoarele documente de referinţă sunt indispensabile pentru aplicarea acestui document. Pentru referintele datate, se aplica doar editia citata. Pentru referintele nedatate, se aplica ultima edijie a documentului de referinta (inclusiv amendamentele).

ISO 15189:2003, Medical laboratories Particular requirements for quality and competence

3 Termeni şi definitii

Pentru scopul acestui standard se aplica termenii şi definitiile prezentate în ISO 15189, precum si următoarele:

3.1
aerosoli
sistem de particule dispersate în gaz, fum sau ceaţă

3.2
antisepsie
metoda de evitare a infectarii unei plagi sau de producere a infectiei în timpul unei proceduri clinice prin utilizarea unui agent chimic, ca de exemplu un antiseptic

[BS 6324-1]

3.3
antiseptic
germicid chimic conceput în vederea utilizarii pe tegument sau tesut

3.4
agent biologic
orice microorganism, inclusiv cele care au fost modificate genetic, culturile de celule şi endoparazitii umani, care pot fi capabili sa provoace infectie, alergie sau toxicitate.

NOTA - Pentru clasificarea agentilor biologici în grupe de rise, a se vedea capitalul 4.

3.5 curatenie
proces pentru îndepartarea oricarui tip de contaminare, vizibila sau nu

3.6
controlul planului infectiilor
set de proceduri ce pot fi utilizate pentru a limita raspandirea infectiei într-un spital sau într-un laborator

3.7 decontaminare
procedură care elimina sau reduce agenţii microbieni sau toxici pana la un nivel sigur în ceea ce priveste transmiterea infectiei sau a altor efecte adverse

3.8. dezinfectant
agent capabil sa product dezinfectia
[BS 6324-1]

3.9 dezinfectie
proces de reducere a numarului de microorganisme, dar de obicei nu a sporilor bacterieni, fara a omori sau îndeparta în mod necesar alte organisme

3.10 ergonomie
studiul eficientei persoanelor in mediul lor de activitate

NOTA – Acest termen include biomecanica, fiziologia muncii, antropomorfia si interfetele om-masină

3.11
hota de extractie
hota pentru vapori
incinta sau carcasa deasupra unui aparat de laborator pentru extractia aerului sau vaporilor, împiedicand circulatia lor generala

3.12
pericol
sursa potenţiala de vatamare
[IEC 61010-1:2001]

3.13
deşeuri periculoase
deseuri potential inflamabile, combustibile, corozive, toxice, reactive sau periculoase pentru oameni sau mediu

3.14
fise tehnice privind securitatea substantelor
MSDSN1)
buletin tehnic care furnizeaza informatii detaliate asupra pericolelor si precautiilor

3.15
cabinet de securitate microbiologica
MSC
cabinet de securitate biologica
incinta ventilata, cu scopul de a oferi protectie pentru utilizator si mediu fata de aerosolii care provin în urma manipularii microorganismelor potential periculoase si periculoase, cu mijloace de filtrare a aerului evacuat în atmosfera

NOTA - Adaptat dupa EN 12469: 2000.

3.16 microorganism
entitate microbiologica, celulara sau necelulara, capabila de a se reproduce sau de a transfera material genetic

3.17
zgomot
sunet nedorit sub forma de energie acustica ce poate afecta negativ sanatatea

3.18
echipament personal de protectie
material, inclusiv îmbracaminte, care se utilizeaza pentru a preveni contaminarea unei persoane cu substante chimice sau biologice

3.19
radionuclid
nucleu instabil al unui atom, produs în mod natural sau artificial, care emite radiatii ionizante

N1) NOTA NATIONALA - MSDS reprezinta abrevierea din limba engleza a termenilor "material safety data sheet"

3.20
risc
combinarea probabilitatii de producere a unui pericol si severitatea acelui pericol

3.21
hota de securitate
protectie deasupra unui spatiu de lucru din laboratorul medical sau dispozitiv destinat sa reduca riscul pentru personalul de laborator

3.22
trusa pentru interventie în cazul scurgerilor de lichide
set de echipamente utilizat pentru îndepartarea materialului chimic sau microbiologic de pe o suprafata sau de pe un aparat de laborator

3.23
aparatoare împotriva stropirii
dispozitiv utilizat pentru a preveni contaminarea personala cu un lichid

3.24 sterilizare
proces validat utilizat pentru a realiza ca un produs sa nu fie contaminat cu microorganisme

3.25
zona tehnica
spatiu dintr-un laborator medical alocat pentru prepararea sau examinarea probelor

3.26 tesut
once grup de celule specializate, de origine animala sau vegetala

4 Clasificarea grupelor de risc

Agentii biologic! sunt clasificati în patru grupe de risc:

a) Grupa I de risc (risc scazut pentru individ si comunitate)

Acest grup cuprinde acele microorganisme, bacterii, fungi, virusuri şi paraziti care nu pot produce boli la persoane sau animale sanatoase (de exemplu agenţi biologici nepatogeni)

b) Grupa a ll-a de rise (rise moderat pentru individ, rise limitat pentru comunitate)

Acest grup cuprinde agentii patogeni care pot produce boli la om sau la animale, dar care în conditii normale nu prezinta un pericol real pentru personalul de laborator sanatos, comunitate, faună sau mediu (de exemplu Staphylococcus aureus, Listeria monocytogenes). Expunerea din laborator produce rareori infectii care sa determine boli grave; există tratament eficient si masuri preventive, iar riscul de transmitere este limitat.

c) Grupa a lll-a de risc (risc crescut pentru individ, risc scazut pentru comunitate)
Acest grup include agentii patogeni care în mod obisnuit produc boli severe la om si la

animale, sau care pot avea ca rezultat consecinte economice importante, dar care, în mod curent nu se propaga prin contact accidental de la un individ la altul, sau care pot fi tratati cu agenti antimicrobieni sau antiparazitari (de exemplu Salmonella typhi, prionii)
.

c) Grupa a IV-a de risc (risc crescut pentru individ, risc crescut pentru comunitate)

Acest grup cuprinde agentii patogeni care produc de obicei boli foarte severe la om si la animale, adeseori netratabile şi care pot fi transmisi cu usurinţă de la un individ la altul sau de la animale la om sau invers, direct sau indirect sau prin contact accidental (de exemplu virusul variolei).

Laboratoarele medicate în care se lucreaza cu agenti infectioşi din Grupele de rise III si IV vor avea nevoie de conditii suplimentare pentru asigurarea securita{ii.

NOTA - In Europa, .Grupele de risc I, II, III si IV" sunt denumite .Grupe de risc 1, 2, 3 şi 4". Pentru scopul acestui standard international, termenii pot fi considered interschimbabili si utilizarea locală va determina terminologia necesara. Grupele de risc II, III si IV pot fi denumite si “agenţi patogeni" sau “agenti infectioşi".

5 Cerinte de management

5.1 Responsabilitati de management

Managementul laboratorului trebuie sa aiba responsabilitatea pentru securitatea tuturor angajaţilor şi a celor care viziteaza laboratorul. Responsabilitatea finala îi revine conducerii laboratorului sau unei persoane desemnate, cu pozitie echivalenta.

5.2 Managementul starii de sanatate a personalului

Toti membrii personalului trebuie sa aiba o dovada documentata privind instruirea legata de riscurile potentiate asociate cu activitatea in orice spatiu al laboratorului medical (clinic).
Toţi membrii personalului trebuie sfatuiti sa informeze medicul lor de familie/medicul personal asupra faptului ca lucreaza într-un laborator medical. Toti membrii personalului trebuie sa fie stimulati sa se vaccineze în vederea prevenirii infectiilor asociate cu microorganismele la care pot fi expuşi. De exemplu, toti membrii personalului care lucreaza sau care manipuleaza sange uman, seruri, lichide organice sau tesuturi umane trebuie vaccinati împotriva hepatite! B. Evidenta vaccinarilor trebuie pastrata în conformitate cu ISO 15189.

6 Proiectare conditii de securitate

6.1 Consideratii preliminare

Atunci cand se are în vedere o constructie noua sau cand un laborator este deja înfiintat si sunt propuse modificari structural, trebuie respectate reglementarile nationale şi locale adecvate şi codurile de constructie care contin standarde de securitate arhitecturala specifica pentru laboratoare. Nu trebuie întreprinse activitati structurale sau tehnice fara aprobari din partea conducerii laboratorului sau a unui reprezentant numit de aceasta.

NOTA - Organismele Internationale si nationale de standardizare constituie surse utile de informatii.

6.2 Cerinte generale de proiectare

Laboratoarele trebuie proiectate astfel încat sa garanteze ca nivelul pericolelor microbiologice, chimice, radiologice şi fizice este corespunzator nivelului riscurilor evaluate pentru zonele tehnice de lucru şi asigura un mediu de lucru sigur în zonele cu

birouri şi în spatiul public învecinat, pentru a limita riscul pentru comunitatea din jur. Coridoarele şi pasajele spre ieşire nu trebuie sa contina obstructii.

Laboratorul trebuie proiectat astfel încât sa asigure o separare clara a utilitatilor de flebotomie acolo unde acestea sunt incluse în zona laboratorului, de receptie a probelor, a zonelor administrativă şi analitica. Fiecare zona trebuie sa posede utilităti, mobilier, suprafete de lucru şi pardoseli adecvate pentru activitatea care se desfaşoara acolo. Trebuie sa existe spatiu liber suficient pentru desfăşurarea activitatii în conditii de securitate, inclusiv spatiu corespunzator în jurul echipamentelor de laborator, pentru personalul care asigura întreţinerea. Trebuie sa existe spatii speciale adecvate în apropierea spatiului de lucru al laboratorului, dar separate de acesta, pentru depozitarea sigura a probelor, substan|elor chimice, înregistrarilor şi pentru gunoi sau deşeurile de laborator, înainte de înlaturarea acestora.

In toate zonele unde se manipuleaza materiale biologice trebuie fixate chiuvete speciale pentru spalarea mainilor. Ori de cate ori este posibil, robinetele actionate manual trebuie înlocuite cu echipament actionat prin mişcare, cu cotul, genunchiul sau talpa piciorului. Chiuvetele instalate pentru spalarea mainilor în zonele în care se manipuleaza substante biologice trebuie sa aiba scurgere libera (adica fara dopuri în bazin), iar temperatura apei calde trebuie sa permita ca mainile sa fie ţinute confortabil sub jet.

Se recomanda o temperatura a apei de 45°C.

NOTA - DacS robinetele sunt acfionate manual, este bine să se utilizeze în acest scop hartie prosop sau un material similar, pentru a se evita contaminarea mainilor.

Cand se proiecteaza sistemul de circulate a aerului in laboratorul medical, trebuie sa se tina seama de o separare eficienta între zonele contaminate. Fiecare zona trebuie sa aiba un sistem individual de circulate a aerului.

6.3 Conditii fizice

6.3.1 Lumina

Laboratoarele trebuie iluminate natural sau artificial pana la un nivel optim pentru ca activitatea sa se desfasoare în siguranta. Lumina orbitoare si reflectiile care abat atentia trebuie reduse la minimum.

6.3.2 Temperatura

Toate echipamentele care genereaza temperaturi ridicate sau temperaturi scazute excesive trebuie izolate de spatiul de lucru general. Pentru a asigura personalului de laborator securitate şi confort trebuie sa se asigure echipament personal de protectie, inclusiv manusi de protectie termică şi îmbra'caminte potrivita.

Temperatura ambianta din laboratoare trebuie controlata cat mai bine posibil pana la un nivel compatibil cu confortul personalului.

6.3.3 Ventilatie

Toate echipamentele cu potential de a genera vapori toxici sau care emit caldura excesiva, aburi, mirosuri sau noxe trebuie izolate de spatiul de lucru general si amplasate sub o hota de extractie adecvata. Daca aceste dispuneri nu sunt posibile, trebuie asigurate amenajari speciale pentru confortul lucratorului.

Cand in urma anumitor procese manuale pot sa apara mirosuri neplacute sau care provoaca greata, se recomanda ventilatie locala, naturala sau mecanica.

Umiditatea ambianta si modificarea circulatiei aerului din laboratoare ar trebui facute compatibile cu confortul si securitatea lucratorului.

Debitul aerului trebuie supravegheat cu regularitate, pentru a se garanta ventilatia adecvata si ar trebui reglat pentru a se evita dispersia agentilor potential infectiosi si a vaporilor toxici.

Conductele de aerisire ar trebui izolate de spatiul de lucru general în scopul evitarii dispersiei agentilor infectioşi transmisi pe cale aerogena sau a mirosurilor, în restul spatiului de lucru.

6.3.4. Zgomot

In spatiul de lucru al laboratorului trebuie evitate zgomotele excesive. Alegerea si localizarea echipamentelor vor trebui sa tina seama de piesele individuate de echipament si de contributia lor la nivelurile cumulative ale zgomotului în spatiul de lucru. Ar trebui luate masuri pentru a minimaliza sau a atenua generarea zgomotului.

6.3.5. Factori ergonomici

Activitatea de laborator, spatiul de lucru si echipamentul (de exemplu scaunele, spatiile de lucru din laborator, tastaturile calculatoarelor, monitoarele) precum si echipamentul care produce vibratii si ultrasunete etc. trebuie proiectate si pozitionate astfel încât să reduca riscurile de tulburari functionale ergonomice si accidentele.

6.3.6. Proiectarea activitatii cu agenti patogeni vii

Toate laboratoarele care lucrează cu agenti biologici vii ar trebui să aiba caracteristici de proiectare adecvate pentru restrictionarea microorganismelor cu rise moderat pana la crescut pentru Individ.

Laboratoarele proiectate să lucreze cu microorganisme din Grupa a III-a de rise sau dintr-o grupa superioara vor include caracteristici de proiectare pentru o restricţionare mai mare.

6.3.7. Simboluri de la uşi

Toate laboratoarele trebuie identificate la fiecare punct de intrare şi ieşire, cu iesiri in caz de pericol marcate spre a le distinge de iesirile normale. Simbolurile de la fiecare locatie trebuie sa includa indicatori de risc acceptati pe plan international (de exemplu risc biologic, pericol de incendiu, radioactivitate) si alte simboluri relevante prevazute de lege.

6.3.8. Securitatea laboratorului

Intrarile laboratorului vor avea usi care se pot încuia. Aceste încuietori ale uşilor nu vor împiedica iesirea in caz de urgenţă. Accesul in laborator trebuie limitat la personalul autorizat. Pot fi necesare încuietori pentru uşile interioare, pentru a se limita intrarea în timp ce se examineaza probe cu risc ridicat. Cand se depoziteaza probe cu risc ridicat, culturi, reactivi chimici sau materiale poate fi nevoie de masuri de securitate suplimentare, cum arfi usi cu încuietori, congelatoare încuiate, acces limitat la personalul specific etc. Ar trebui sa se evalueze amenintarea furturilor si falsificarilor de agenti biologici, probe, medicamente, substance chimice şi informatii confidentiale şi sa se ia masurile adecvate pentru a se preveni producerea acestor acte.

7 Personal, proceduri, documentatie, inspectii §i inregistrari

7.1. Responsabilul cu securitatea laboratorului

Trebuie desemnat un responsabil cu securitatea laboratorului, cu calificarea şi experienta necesare, care sa-i ajute pe manageri în problemele de securitate. Aceasta persoana va furniza, mentine şi monitoriza un program eficient de securitate a laboratorului.
Un program eficient de securitate a laboratorului ar trebui sa cuprinda educarea,

orientarea şi instruirea, auditul si evaluarea şi programele care favorizeaza practica de laborator în conditii de securitate.

Acest responsabil cu securitatea laboratorului trebuie autorizat sa opreasca activitatile care nu prezinta siguranta. Daca exista un Comitet de securitate, responsabilul cu securitatea laboratorului trebuie sa fie cel putin membru din oficiu al acestui Comitet, daca nu presedinte al său.

7.2 Proceduri

Procedurile de operare standard pentru laborator vor conţine instructiuni amanuntite cu privire la toate riscurile presupuse si la modul de realizare a procedurii cu un risc minim. Procedurile trebuie revizuite şi actualizate cel putin o data pe an de catre reprezentantul conducerii care este responsabil cu activitatea la locul de munca. Trebuie elaborat un plan scris, care sa cuprinda protocoale pentru comunicarea riscurilor. Planul va include urmatoarele:

a) dispoziţii pentru vizitatori/contractanti;
b) supravegherea starii de sanatate a personalului;
c) dispozitii privind evaluarile riscului, observatiile înregistrate si actiunea care trebuie întreprinsa;
d) proceduri de supraveghere a inventarului pentru identificarea substantelor chimice si a altor materiale periculoase, inclusiv cerinte de etichetare corespunzatoare, de depozitare si eliminare sigure;
e) proceduri pentru practici sigure de manipulare a materialelor periculoase;
o) proceduri de prevenire a furturilor materialelor cu rise ridicat/contaminate;
g) metode pentru identificarea necesitatilorde instruire si documentare;
h) proceduri pentru obtinerea, mentinerea şi distribuirea fiselor tehnice (MSDS) privind securitatea substantelor pentru toate materialele utilizate (pentru a garanta ca angajatii au acces 24 h la aceste informatii);
i) proceduri pentru decontaminarea si întretinerea echipamentului în conditii de securitate;.
j) proceduri de urgenta care să includă protocoale pentru pierderi prin scurgere (a se vedea anexa A asupra planurilorde actiune şi anexa C asupra decontaminarii scurgerilor);
k) înregistrare/raportare si investigarea incidentelor; si
l) îndepartarea deşeurilor clinice.

7.3 Audituri şi inspectii pentru programul de securitate

7.3.1 Audituri ale programului de securitate

Programele de securitate trebuie supuse auditului şi trebuie revizuite cel putin anual (de catre persoane instruite corespunzator), cuprinzand dar nelimitandu-se la urmatoarele elemente:

a) politica de securitate şi ocrotire a sanatatii;
b) proceduri de lucru scrise care sa includa practici sigure de lucru;
c) educarea şi instruirea personalului asociat laboratorului;
d) supravegherea lucratorilor;
e) inspectii regulate;
f) materiale si substante periculoase;
g) supravegherea starii de sanatate;
h) servicii si echipamente de prim ajutor;
i) investigarea accidentelor şi a îmbolnavirilor;
j) revizuirea comitetului de ocrotire a sanatatii si securitate;
k) înregistrari şi statistici;

l) revizuirea programelor de securitate cu conditia de supraveghere, pentru a exista garantia ca toate actiunile necesare care rezulta din audit sunt îndeplinite.

NOTA - Tabelele de control, adaptate fn functie de zona de supravegheat, sunt mijioace eficiente pentru audit (a se vedea anexa B asupra realizării unui audit privind securitatea laboratorului).

7.3.2 Inspectie **de securitate**

Conducerea laboratorului este responsabila de garantarea efectuarii inspectiilorde securitate.

Locurile de munca trebuie supravegheate/inspectate cel putin anual. Aceasta se face pentru a se garanta:

a) starea corespunzatoare de functionare a aparatelor de urgenta pentru stingerea incendiilor, alarme şi proceduri de evacuare,

b) starea procedurilor si materialelor pentru limitarea scurgerilor periculoase, inclusiv a duşurilor de necesitate,

c) limitarea si controlul adecvat al depozitarii materialelor inflamabile si combustibile, infectioase, radioactive, toxice, si

d) starea procedurilor de decontaminare si îndepartare a deseurilor

Comitetul de securitate trebuie să participe la supravegherea securitatii. Inspectiile regulate privind securitatea servesc si la a reaminti tuturor angajatjlor riscurile posibile, a garanta conformitatea si a consolida responsabilitatea inspectorului.

7.4 Manual de securitate

In zonele de lucru trebuie sa fie disponibil un manual de securitate care sa fie citit de toti angajatii. Manualul trebuie sa fie specific pentru necesitatile laboratorului, dar sa nu fie limitat la urmatoarele categorii majore:

a) prevenirea incendiilor;

b) securitatea electrica;

c) securitatea chimica';

d) radiatii;

e) riscuri microbiologice; si

f) îndepartarea deseurilor periculoase.

Manualul de securitate trebuie sa cuprinda instructiuni pentru evacuarea spatiului de lucru si protocolul de actiune in cazul unui incident (a se vedea anexa A pentru mai multe informatii asupra planurilor de actiune). Manualul de securitate trebuie revizuit şi actualizat cel puţin anual de catre conducerea laboratorului.

Si alte surse de informatii disponibile in laborator trebuie incluse, dar sa nu fie limitate la fişele tehnice pentru toate substantele chimice si agentii manipulati în laborator fi alte materiale de referinta incluzand texte si articole autorizate.

7.5 In registrari

7.5.1 Generalitati

Înregistrarile trebuie pastrate în conformitate cu ISO 15189. De remarcat faptul ca se pot aplica reglementarile sau ghidurile Internationale, nationale şi regionale.

7.5.2 Boli profesionale, raniri şi inregistrari ale incidentelor adverse

Trebuie sa existe un mecanism pentru înregistrarea si raportarea bolilor profesionale, ranirilor, incidentelor sau accidentelor nefavorabile şi a actiunilor întreprinse în consecinta, respectandu-se în acelaşi timp confidentialitatea indivizilor.

Trebuie pastrate înregistrari asupra instruirii personalului. Acestea ar trebui sa cuprinda date despre orientarea securitatii şi actualizari anuale ale pregatirii privind securitatea pentru fiecare angajat în parte.

7.5.3 Înregistrari pentru evaluarea riscurilor

Trebuie sa existe un sistem formalizat de evaluare a riscului. Pe langa orice evaluari formale ale riscului la locul de munca care pot fi necesare, un tabel de control privind securitatea poate fi un mijloc satisfacator de a înregistra si documenta programul de revizuire (a se vedea 7.3).

NOTA - Inregistrarile auditurilor de securitate şi examinarea tendintelor şi a incidentelor pot oferi mecanismele care să ajute la garantarea îndeplinirii acţlunilor de remediere.

7.5.4 Inregistrari privind deseurile periculoase

Inregistrările asupra eliminarii deşeurilor periculoase trebuie sa constituie o parte integranta a programului de securitate. Inregistrarile privind îndepartarea deseurilor periculoase, evaluarile riscului, supravegherile de securitate şi actiunile care decurg în mod logic trebuie pastrate într-un dosar accesibil pentru perioada de timp ceruta de legislatia nationala sau locala..

8 Identificare **pericole**

Zonele periculoase trebuie identificate in mod clar si sistematic şi sa fie corespunzatoare pentru riscul pe care îl presupun. In anumite împrejurări, poate fi potrivit sa se identifice zona periculoasă şi sa se utilizeze atat însemne cat şi bariere fizice.

Materialele cu risc specific ce urmează a fi utilizate in laborator sau in compartimentele laboratorului trebuie sa fie identificate cu claritate.

Toate intrarile si iesirile din zonele de lucru trebuie marcate pentru pericolele pe care le prezinta. Trebuie sa se acorde o atenţie speciala pericolelor de incendii si materialelor inflamabile şi materialelor toxice, radioactive, nocive sau cu rise biologic. Conducerea laboratorului este responsabila de revizuirea regulata si actualizarea acestui sistem de identificare a pericolelor pentru a garanta relevanta sa la pericolele cunoscute a fi prezente. Această activitate trebuie realizata cel putin anual.

Personalul de întretinere care nu face parte dintre membrii laboratorului, contractantii şi subcontractanţii trebuie sa fie înstiintati în legatura cu pericolele la care pot fi expuşi.

Angajatii trebuie instruiti, familiarizati si sa detina instructiuni specifice scrise în legatura cu procedurile de urgenta.

Trebuie sa se întreprinda identificarea şi revizuirea riscurilor potentiate pentru sanatatea femeilor însarcinate. Trebuie sa se realizeze şi sa se înregistreze o evaluare a riscului.

9 Raportare incidente, raniri, accidente şi boli profesionale

Laboratorul trebuie sa detina un program pentru raportarea tuturor incidentelor, traumatismelor, accidentelor si bolilor profesionale, precum si a riscurilor posibile.

Trebuie sa se întocmeasca rapoarte pentru toate incidentele, inclusiv pentru raniri, si aceste rapoarte trebuie sa cuprinda o descriere amanuntită a incidentului, o evaluare a cauzei, recomandari pentru prevenirea incidentelor similare si actiunile întreprinse pentru implementarea recomandarilor.

Rapoartele asupra incidentului, inclusiv actiunile de remediere, trebuie revizuite de conducerea laboratorului, de cometetul de securitate sau de responsabilul cu securitatea laboratorului.

10 Instruire

Conducerea laboratorului trebuie sa garanteze ca pentru întreg personalul asociat laboratorului, inclusiv pentru personalul care asigura transportul si curatenia sunt implementate programe de instruire privind securitatea muncii.

Trebuie sa fie subliniata desfasurarea activitatii în conditii de securitate.

Un program complet de instruire începe cu un plan scris şi trebuie sa cuprinda o introducere pentru noii angajati precum si o reinstruire periodică pentru angajaţii cu experienta. Angajatii trebuie sa citeasca manualul de securitate adecvat înainte de a începe sa lucreze într-o zona. Membrii personalului trebuie sa confirme în scris ca li s-a facut instructajul si ca au citit si au înteles manualele de securitate, inclusiv datele cand acestea au fost realizate.

Un program de instruire minimum în domeniul securita{ii muncii trebuie sa cuprinda prevenirea incendiilor, securitatea chimica si a radiatiilor si prevenirea riscurilor biologice si a infectiilor. Programul trebuie ajustat în functie de descrierea sarcinii angajatului şi trebuie sa cuprinda consideratii corespunzatoare pentru conditii precum graviditatea, imunodeficienta si handicapul fizic. Trebuie sa existe un sistem pentru aprecierea modului în care fiecare angajat în parte a înţeles informatiile care i-au fost transmise.

11 Responsabilitatile personalului

11.1 Alimente, bautura şi produsele similare

Alimentele, bautura si produsele similare trebuie permise numai în zone special desemnate pentru prepararea si consumul lor.

Alimentele si lichidele de consum trebuie pastrate numai în frigidere desemnate special, localizate în afara laboratorului. Alimentele nu trebuie depozitate alaturi de reactivi, sânge sau alte materiale potential infectioase.

Frigiderele trebuie etichetate corespunzator pentru a indica scopul pentru care sunt utilizate. În zonele cu activitate tehnica fumatul trebuie interzis.

11.2 Cosmetice, par, barba şi bijuterii

In zonele cu activitate tehnica trebuie interzise aplicarea cosmeticelor si manipularea lentilelor de contact.

Parul lung trebuie strans la spate. Este important ca părul sa fie tinut la distanta de echipamentul în miscare. Barbatii care poarta barba trebuie sa respecte aceleaşi precautii ca cele pentru par.

Inelele, cerceii, ceasurile de mana, bratarile, colierele şi alte bijuterii nu trebuie purtate în zonele tehnice ale laboratorului, daca exista vreun risc de a fi prinse în echipament sau de a fi contaminate cu substante infectioase sau cu substanţe chimice.

NOTA 1 - Pot fi utilizate creme pentru maini.

NOTA 2 - Pot fi utilizate bonete pentru par si acoperitori pentru barba.

11.3 Situatia vaccinarilor

Toti angajatii laboratorului trebuie stimulati sa se vaccineze pentru a preveni infecţiile asociate germenilor la care pot fi expusi.

Tuturor persoanelor care lucreaza sau care manipuleaza sange uman, seruri, fluide

organice sau tesuturi umane trebuie sa li se asigure vaccinarea împotriva hepatitei B. Inregistrarile vaccinarilor trebuie pastrate în conformitate cu reglementarile nationale, regionale şi locale.

Programul de vaccinare pentru un anumit laborator trebuie sa se bazeze pe aprecierea riscului din laboratorul respectiv si pe recomandari de la oficialii locali de sanatate publica. Se pot aplica regulamente sau ghiduri Internationale, nationale sau regionale.

NOTA - Numeroase boli infectioase dobandite în laborator pot fi prevenite în mod eficient printr-un program de imunizare activa. Alegerea vaccinurilor pentru utilizare poate varia, pe baza riscurilor posibile ale institutiei sau amplasamentului.

11.4 Proprietatea personala

Obiectele proprietate personala, hainele si produsele cosmetice nu trebuie plasate în arii unde se poate produce contaminarea.

Trebuie asigurata pastrarea lor în siguranta, ca de exemplu în vestiare.

11.5 Decoratiuni festive

In zonele de activitate tehnica nu trebuie utilizate decoratiuni festive si alte decoratiuni care prezinta contaminare potentială si/sau pericol de incendiu.

Decoratiunile nu trebuie atasate de corpurile de iluminat, de dispozitivele de fixare a corpurilor de iluminat sau de instrumente tehnice.

12 Imbracaminte şi echipament personal de protectie (PPE)[N2)], inclusiv manuşi, obiecte pentru protectia ochilor, fetei, picioarelor si a respiratiei

12.1 fmbracamintea de protectie din laborator

Laboratorul trebuie sa garanteze existenja unui numar mare de echipamente de protectie curate (de exemplu tunici şi halate), adecvate pentru nivelul de risc, atat pentru persoanele care lucreaza in laborator cat si pentru persoanele care viziteaza laboratorul.

Cand nu se utilizeaza, îmbracamintea de protectie curata trebuie atarnata pe agajatori destinate în acest scop. Aceste agajatori trebuie sa se afle la distanta de radiatoare, conducte cu aburi, instrumente de mcalzire si flacari deschise. Imbracamintea de protectie contaminată trebuie introdusă şi transportată în saci identificati corespunzator, care împiedica scurgerile. Aceasta trebuie spalata bine pentru a se asigura decontaminarea chimica si biologica.

Imbracamintea de protectie trebuie schimbata periodic pentru a fi garantata curatenia sa si trebuie sa fie schimbata imediat daca se stie ca este contaminate cu materiale periculoase.

Îmbracamintea de protectie trebuie scoasa înainte de ieşirea din zona laboratorului.

NOTA - Daca exista o probabilitate semnificativa ca angajatul sau vizitatorul sa fie stropit cu substante potential periculoase poate fi nevoie de şorturi de unica folosinta de material plastic sau halate impermeabile.În aceste situatii pot fi necesare si alte echipamente de protectie cum arfi manuşi, ochelari de protectie, măşti, capisoane si aparatori pentru fata.

12.2 fmbracamintea de protectie în afara laboratorului

Flebotomistii sau alti lucratori ale caror indatoriri li solicita în afara laboratorului trebuie sa poarte tunici sau halate curate cand lucrează cu pacientii.

12.3 Protectia corpului şi a fetei

Trebuie sa existe masuri de protectie împotriva stropirii sau dispozitive similare daca exista probabilitatea de stropire cu probe sau reactivi.

Procedurile care genereaza aerosoli, efectuate pe probe care pot sa contina microorganisme trebuie efectuate într-un cabinet de securitate microbiologică.

Cand se manipuleaza materiale periculoase, trebuie sa existe ochelari de protectie, aparatori pentru fata sau alte dispozitive aprobate pentru protectia ochilor şi a fetei.

Lentilele de contact nu ofera protectie la stropirea cu lichide. Cand se poarta lentile de contact sunt necesare dispozitive suplimentare pentru protejarea ochilor.

12.4 Manuşi

Manusile trebuie sa fie disponibile în vederea utilizarii în cadrul operatiunilor din laborator pentru conferirea protectiei fata de substantele chimice, biologice, periculoase, contaminarea radioactiva, frig sau caldura, contaminarea produsului, muchii ascutite si abraziuni.
Manusile trebuie sa îndeplineasca condiţiile de confort, adaptare, apucare, flexibilitate, rezistenta la abraziune, rezistenţă la înţepare si rezistentă la rupere, pentru tipul de manipulare efectuat şi trebuie sa asigure protectia pentru riscurile implicate. Laboratoarele trebuie sa puna la dispozitie manuşi nepudrate si/sau materiale alternative pentru angajatii care sufera de alergii si alte reactii, ca de exemplu reactia la latexul natural, talc, amidon sau vinil.

N2) NOTA NATIONALA - PPE reprezinta abrevierea din limba engleză a termenilor "personal protective equipment".

Personalul de laborator trebuie instruit in legatură cu alegerea manusilor, adaptarea şi scoaterea lor, înainte şi dupa utilizare.

Manusile trebuie sa fie:

a) inspectate pentru integritate înainte de a fi purtate,
b) sa acopere complet mainile si articulaţia pumnului, şi cand este cazul, sa se suprapuna peste halatul de laborator sau manseta tunicii,
c) înlocuite daca sunt uzate, rupte sau suspectate de contaminare interna, si
d) utilizarea manusilor trebuie sa se faca în functie de activitatea specifica, adica ele trebuie utilizate numai în timpul contactului cu materialul potential contaminat şi trebuie îndepartate şi aruncate în conformitate cu practicile de securitate locala cand activitatea este terminate sau întrerupta.

Manuţile murdare trebuie scoase înainte de a se manipula materiale de referinta, telefoane, tastaturi, etc.

12.5 Încaltaminte

Incaltamintea trebuie sa fie confortabila, cu talpi nealunecoase. Sandalele deschise la varf nu sunt potrivite ca încaltaminte de laborator. Se recomanda încaltamintea de piele sau sintetica, impermeabila. Cand se anticipeaza stropirea, se pot purta peste încaltaminte învelitori impermeabile de unică folosinta.

Pentru activitatea de rutina din laborator se recomanda pantofi fara toc, confortabili din punct de vedere ergonomic.

NOTA 1- Pentru zonele de laborator specifice, inclusiv pentru utilitatile cu risc mare de infectie poate fi necesara încaltaminte speciala (de exemplu cizme de unica folosinti sau cauciucate).

NOTA 2 - Cand se lucreaza cu substante chimice, Tn timpul activitatilor periculoase sau în laboratoarele de histopatologie unde se folosesc cu regularitate cutite sau alte instrumente ascutite, potfi necesari pantofi speciali care asigura securitatea.

12.6 Protectia respiratiei

Daca în timpul unei activitati tehnice este necesara folosirea unor dispozitive pentru protectia respiratiei (de exemplu maşti, masti de gaze personale), în textul procedurii de operare de securitate pentru aceasta activitate trebuie incluse instructiuni asupra utilizarii şi întreţinerii lor. Mastile de gaze trebuie utilizate numai în conformitate cu instructiunile şi instruirea specifice.

Trebuie sa se ia masuri şi pentru supravegherea spatiului de lucru, examenul medical si pentru supravegherea utilizatorilor de ma§ti de gaze, pentru a se garanta ca echipamentul este folosit Tn mod corect. Mastile de gaze pot necesita testarea adaptarii individuale. Persoanele care poarta barba nu pot fi protejate complet de mastile de gaze.

12.7 Spalarea mainilor

Persoanele care lucreaza în laborator trebuie sa se spele pe maini imediat dupa contactul efectiv sau posibil cu sange, lichide organice sau alte materiale contaminante, chiar daca poarta manuşi.

Mainile trebuie spalate în mod curent după scoaterea manusilor, înainte şi dupa utilizarea toaletei, înainte de a parasi laboratorul, înainte de a manca sau fuma şi înainte si dupa contactul cu fiecare pacient.

Toate persoanele care lucrează în laborator sau care viziteaza laboratorul trebuie sa se spele pe maini ori de cate ori se contamineaza, precum şi ori de cate ori ies din aria tehnica.

Laboratoarele trebuie să furnizeze materiale alternative pentru spalarea mainilor pentru angajatii care sufera de alergii sau alte reactii la compusii specifici continuţi în anumiti agenti antiseptici. La toate punctele de spalare trebuie sa se furnizeze lotiuni tegumentare hipoalergice.

Chiuvetele utilizate pentru spalarea mainilor nu trebuie utilizate pentru aruncarea sangelui si a lichidelor organice.

NOTA - In locaţiile unde accesul la chiuvetele pentru spalarea mainilor este limitat, utilizarea unor produse de curatare a mainilor _fara apă pe bază de alcool constituie o alternativa acceptabilă la spalatul traditional al mainilor.

12.8 Instruirea

Laboratorul trebuie sa garanteze ca exista personal instruit în acordarea primului ajutor. Trebuie oferite materiale si proceduri pentru reducerea efectelor nefavorabile si incidentelor produse persoanelor din laborator care lucreaza cu materialele chimice, toxice sau potential infectioase. Trebuie sa existe si indicatii pentru tratament si, unde este nevoie, asistenta medicala de urgenta imediata compatibila cu riscurile posibile în laborator. Tot personalul trebuie sa fie familiarizat cu actiunile care trebuie întreprinse dupa întepaturile cu acul.

NOTA - A se vedea anexa B pentru indicatii generale si specifice pentru acordarea primului ajutor.

12.9 Echipament

Conducerea laboratorului trebuie sa garanteze ca în laborator exista cel putin urmatoarele utilitati de prim ajutor si proceduri de urgenta:

a) o trusa medicala de prim ajutor;

b) echipament de prim ajutor;

c) echipament pentru irigarea ochiului;

d) antidoturi pentru substante chimice otravitoare utilizate în laborator si instructiuni pentru utilizarea lor;

e) Îmbracaminte de protectie si echipament de securitate pentru persoana care acorda primul ajutor; şi

f) Masuraă de asistenta medicala de urgenta si transfer prompt la spital cand este nevoie.

12.10 Puncte pentru spalarea ochilor

Punctele pentru spalarea ochilor trebuie sa fie localizate convenabil acolo unde se utilizeaza acizi, substante chimice caustice, corozive şi alte substanje periculoase sau materiale biologice periculoase sau acolo unde se efectueaza lucrari cu substante radioactive. Aceste puncte pentru spalarea ochilor trebuie sa aiba un design fix aprobat sau sa fie un dispozitiv simplu, de tip spray atasat la o sursa de apa sau la solutie salina izotonica furnizata printr-un furtun flexibil. Dispozitive simple de pulverizare prevazute cu un numar mare de containere cu apa sterila ce se deschid usor constituie o alternativa acceptabila în zonele unde există riscul de stropire si nu exista acces la conducte de apa.

Dispozitivele atasate la sursa de apa ar trebui testate saptamanal pentru a se garanta functionarea lor corecta şi pentru a îndeparta apa care stagnează.

12.11 Duuri de urgenta

Duşurile de urgenta trebuie sa fie usor accesibile acolo unde se utilizeaza substante chimice caustice si corozive.

Functionarea corespunza'toare a acestor dispozitive trebuie verificata periodic. Numarul acestor duşuri de urgenta depinde de complexitatea si de întindeirea laboratorului. Ori de cate ori este posibil apa furnizata trebuie sa aiba temperatura confortabiia. In vecinatatea acestor dusuri trebuie asigurate în mod normal scurgeri în pardoseala.

NOTA - În zonele cu nivel de rise ridicat, scurgerile în pardoseala pot compromite nivelul de risc si prin urmare instalarea lor poate tl nepotrivită.

13 Buna practică în asigurarea curateniei

Trebuie desemnata o persoana care sa asigure curaţenia. Laboratorul trebuie sa desemneze zonele tehnice ca fiind fie curate fie contaminate.

Zonele de lucru trebuie pastrate permanent ordonate şi neaglomerate.

Trebuie interzisa depozitarea unor cantitati mari de deşeuri care pot avea ca rezultat obstructia spatiului de lucru.

Toate echipamentele şi suprafejele de lucru care sunt utilizate pentru prelucrarea materialelor contaminate trebuie curatate şi dezinfectate cu agentii corespunzatori la sfarşitul fiecarei ture şi ori de cate ori s-a varsat ceva sau s-a produs alt tip de contaminare.

Toate scurgerile de probe, substante chimice, radionuclizi sau culturi trebuie curatate şi aria trebuie decontaminată dupa evaluarea riscului (a se vedea anexa C asupra decontaminarii picaturilor de lichide). În timpul efectuarii curateniei vor trebui luate precautii de securitate aprobate, metode de securitate şi echipament de protectie a personalului.

Modificarile practicilor sau materialelor de mentinere a curateniei trebuie aduse la cunoştinta conducerii laboratorului pentru a se garanta posibilitatea evitarii oricaror riscuri

sau pericole ce pot aparea.

Modificarea practicilor de laborator, a deprinderilor de lucru sau a materialelor care pot avea ca rezultat pericole potentiate pentru curăţenie şi/sau personalul de întretinere trebuie de asemenea aduse la cunoştinta conducerii laboratorului şi în scris managerilor personalului de curatenie şi întretinere.

Unele incidente de scurgeri de produse pot necesita evacuarea imediata a personalului din zona. Impactul acestor scurgeri poate fi influentat atat de cantitatea cat şi de natura agentului implicat. Trebuie utilizat protocolul din Manualul de securitate care se ocupa de astfel de evenimente (a se vedea anexa A pentru mai multe informatii asupra elaborarii planurilor de actiune pentru scurgeri de lichide).

Trebuie stabilite protocoale specifice pentru decontaminarea, curatarea şi dezinfectia fiecarei piese de echipament în cazul accidentelor sau scurgerilor care pot avea ca rezultat contaminarea biologica, chimica sau radioactiva şi de asemenea înainte ca echipamentul sa fie întretinut sau reparat (a se vedea anexa C pentru mai multe informatii asupra decontaminarii, curatarii şi dezinfectarii echipamentului).

NOTA - In timpul procedurii de curăţenie poate fi necesar echipament personal de protecţie corespunzător.

14 Desfaşurarea activitatii în conditii de securitate

14.1 Desfaşurarea activitatii în conditii de securitate cu toate materialele de origine biologica

In toate laboratoarele medicale, politica şi procedurile de manipulare, examinare şi îndepartare a materialelor de origine biologica trebuie sa utilizeze standarde de buna practica microbiologica.
Trebuie sa se utilizeze practici de lucru care sa reduca riscul de contaminare. În zonele de lucru trebuie sa fie implementate practici de lucru care sa împiedice expunerea personalului.
Toate materialele de referinta şi de control al calităţii potential infectioase sau toxice trebuie sa fie depozitate, manipulate si utilizate cu acelaşi grad de precautie ca cele necesare pentru probele cu rise necunoscut.

NOTA 1- Numeroase astfel de produse sunt obtinute din materiale combinate din mai multe surse.

Daca probele sunt deteriorate sau prezinta scurgeri la primire, ele trebuie deschise de persoane instruite care poarta echipamentul adecvat de protectie personala pentru a evita scurgerile sau aerosolii. Astfel de containere trebuie deschise într-un cabinet de securitate microbiologica. În cazul în care conlaminarea este excesiva, sau daca se consideră ca proba este compromisa in mod inacceptabil, aceasta trebuie aruncată în sigurantă, fara a fi deschisa. Cel care a trimis-o trebuie înstiintat imediat.

Pipetatul cu gura trebuie interzis.

Persoanele care lucreaza in laborator trebuie instruite în manipularea si utilizarea în conditii de securitate a instrumentelor si dispozitivelor ascuţite.

Obiectele ascutite, inclusiv acele utilizate, nu trebuie taiate, încovoiate, rupte, reacoperite sau reâvelite cu mana sau îndepartate manual de la seringa. Revizuirile practicilor de lucru trebuie sa include obiectivul reducerii utilizarii obiectele ascutite ori de cate on este posibil.

Obiectele ascutite care trebuie îndepartate, incluzand acele, sticla sau bisturiele de unica folosinta trebuie introduse imediat dupa utilizare în containere rezistente la

perforare. Se pot aplica reglementari nationale, regionale sau locale.

Containerele nu trebuie umplute mai mult de doua treimi din capacitatea lor. Indepartarea sigură a containerelor utilizate şi a continuturilor lor trebuie sa se faca în conformitate cu directivele locale. Se pot aplica reglementari nationale, regionale sau locale.

NOTA 2 - La anumite sisteme de recoltare a sangelui se pot aplica conditii speciale.

14.2 Cerinte speciale pentru activitatea în laboratoarele de microbiologie

Aceste cerinte trebuie sa fie aplicate în mod normal la alte discipline de laborator medical ori de cate ori este posibil.

Trebuie sa se presupuna ca toate probele, culturile sj deşeurile contin agenti biologici vii care pot fi asociati cu transmiterea bolilor infectioase şi ca acestea trebuie manevrate în conditii de securitate.

Toate materialele de referinta şi de control al calitatii potential infectioase sau toxice trebuie sa fie depozitate, manipulate şi utilizate cu acelaşi grad de precautie ca şi cel aplicat pentru probele cu rise necunoscut.

Halatele trebuie purtate tot timpul cat se lucreaza cu probe, seruri sau culturi. Halatele trebuie sa fie închise în fata si la gat si sa aiba mâneci lungi cu mansete.

Preferabil, halatele trebuie sa fie confectionate din materiale impermeabile.

Trebuie purtate manusi ca bariera pentru împiedicarea contaminarii mainilor în timpul manipularii probelor şi a culturilor. Totuşi, manuşile trebuie scoase la terminarea lucrului pentru a se evita contaminarea spatiului de lucru. Purtarea manusilor nu trebuie considerata ca alternative la spalarea minutioasa a mainilor.

Mainile trebuie sa fie întotdeauna spalate minutios cand se scot manusjle.

Pentru sterilizarea buclelor anselor microbiologice trebuie sa fie utilizate dispozitive electronice de incinerare.

15 Aerosoli

Practica activitatii de laborator trebuie proiectata si îndeplinita în asa fel încât sa se reduca posibilitatea contactului personal cu aerosolii nocivi, de natura chimica sau biologica.

Probele trebuie centrifugate numai în recipiente bine închise.

Toate probele agitate prin vortexare trebuie introduse în containere prevazute cu capac.

Se recomandă în mod deosebit utilizarea dispozitivelor de siguranta pentru aerul localizat, în cazul pieselor mari de echipament analitic care ar putea genera aerosoli si utilizarea hotelor de extractie de comanda pentru manipularea aparatelor mici. Extracţia aerului localizat este esentiala acolo unde pot fi prezenti vapori chimici nocivi.

15 Cabinete de securitate microbiologica, hote şi cabinete de securitate chimicaN3)

Atunci cand personalul de laborator lucreaza cu probe din Grupele I şi II de risc, este permisa recirculatia aerului din cabinetele de securitate biologica cu conditia ca aerul sa fie trecut prin filtre cu eficienta ridicata (HEPA) înainte de a fi evacuat. Cand laboratoarele lucreaza cu culturi care pot conţine microorganisme din Grupa III de risc sau peste, recircularea aerului trebuie sa fie interzisa.

În unele cazuri, sunt necesare filtre HEPA duble.

Cabinetele de securitate biologica si hotele de securitate chimica trebuie sa fie instalate şi certificate anual de o persoana competenta.

Cabinetele de securitate biologica trebuie monitorizate frecvent pentru a exista certitudinea ca ele functioneaza conform proiectarii. Trebuie tinute înregistrari ale inspectiei şi a rezultatelor testelor de functionare. Dovada inspectiei trebuie sa fie indicată printr-o eticheta de certificare afşata pe cabinet.

Localizarea, modelul şi tipul de cabinet de securitate biologica trebuie sa fie adecvate pentru nivelul de risc, astfel încât activitatea sa se desfaşoare în conditii de securitate. Toate cabinetele de securitate biologica trebuie utilizate în asemenea mod încât sa se evite compromiterea functionarii lor.
Ventilarea cabinetelor de securitate biologica, a hotelor şi a cabinetelor de securitate chimica trebuie sa fie adecvata riscului microbiologic şi/sau chimic şi sa fie compatibila cu conditiile necesare de securitate.

17 Securitate chimica

17.1 Masuri de evitare a contaminarii chimice

În toate laboratoarele medicale, politica şi procedurile de depozitare, manipulare, utilizare şi îndepartare a substantelor chimice trebuie sa fie întotdeauna conforme cu standardele de buna practica în laboratorul de chimie.

Natura şi riscul de pericole asociate fiecarui produs trebuie marcate pe fiecare container depozitat, în conformitate cu standardele internationale, precum şi prin etichetarea clara, neambigua a containerelor de produse “în utilizare".

Trebuie sa fie disponibile masuri adecvate de control pentru riscurile chimice, fizice şi pericolele de incendii. Aceste controale trebuie monitorizate în mod curent pentru a se asigura eficienta lor. Trebuie pastrate înregistrari cu privire la rezultatele procesului de supraveghere.

Lichidele periculoase, cum sunt acizii sau bazele trebuie depozitate sub nivelul ochiului. Containerele mari trebuie depozitate în siguranta pe podea, dar la o înaltime care sa permita manipularea ergonomica sigura.

Pentru manipularea, depozitarea şi utilizarea în siguranţă a gazelor comprimate şi a materialelor criogenice trebuie sa existe utilităti adecvate care sa fie conforme cu cerintele nationale, regionale sau locale.

Pentru a se preveni mişcarea neintenfionata a cilindrilor cu gaz, a reactivilor sau sticlariei de laborator trebuie sa fie instalate dispozitive de securizare (de exemplu lanţuri şi bride).

Tot personalul trebuie sa lucreze conform unor protocoale sigure de operare, care includ utilizarea echipamentului de siguranta sau a dispozitivelor care au fost apreciate ca fiind corespunzatoare pentru activitatea (activitatile) realizată (e).

N3) NOTA NAŢIONALA - De retinut că termenii "cabinete de securitate microbiologies" şi "cabinete de securitate chimică", conform definitiei si clasificării din SR EN 12469:2000, sunt incinte ventilate.

In zonele analitice tot personalul trebuie să poarte permanent îmbracămintea de protecţie adecvata, suplimentata cu echipament de protecţie personala, cand acest lucru este indicat de natura activităţii care se realizeaza (a se vedea capitolul 12).

17.2 Masuri de urgenta aplicabile fn cazul producerii contaminarii chimice

In toate zonele analitice unde exista posibilitatea afectarii ochilor ca urmare a contaminarii chimice trebuie furnizate posibilitati de spalare a acestora.
Cand pericolul chimic este de aşa natura încât exista riscul contaminarii intregului corp, trebuie sa existe duşuri (a se vedea 12.11).

Trebuie sa fie asigurate masuri adecvate împotriva stropirii cu substanje chimice. care sa includă agenti de neutralizare şi absorbanti adecvati pentru substantele chimice utilizate la locul de munca.

17.3 Îndepartarea substantelor chimice

Trebuie sa existe o procedura scrisa clara pentru îndepartarea sigura şi eliminarea deşeurilor fiecarui produs chimic utilizat în laborator. Aceasta va cuprinde detalii suficiente ale procesului de reglementare local pentru a permite conformarea completa la mecanismele prin care aceste materiale pot fi scoase în conditii de siguranta şi în mod legal de sub controlul laboratorului.

18 Securitate fata de radiatii

18.1 Radionuclizi

Înainte de a permite sa se lucreze cu radionuclizi, conducerea laboratorului trebuie sa evalueze justificarea activitatii, amploarea şi locatia sa.

Laboratorul trebuie sa tina înregistrari adecvate privind achizitia, utilizarea şi îndepartarea radionuclizilor. Toate substantele radiochimice trebuie depozitate în conditii de siguranta şi securitate.
Tot personalul care lucreaza sau care este expus la radionuclizi trebuie instruit în ceea ce priveşte tehnicile pe baza de radiatii şi tehnicile asociate şi în protectia contra radiatiilor şi trebuie sa se conformeze la politica şi procedurile de securitate împotriva radiatiilor.
Laboratorul trebuie sa detina proceduri de operare standard scrise şi reguli locale adecvate şi suficiente pentru activitate.
Aceste proceduri vor include instructiuni clare, al caror rezumat trebuie sa fie afişat vizibil la locul de munca unde se lucreaza cu radionuclizi, care sa detalieze actiunile ce trebuie întreprinse în cazul unor accidente şi scurgeri de radiatii.
Procedurile trebuie sa detalieze metodele de îndepartare sigura a materialelor radioactive neutilizate şi a materialelor care au fost amestecate sau contaminate cu materiale radioactive.
Trebuie sa fie afişate avertizari adecvate aprobate şi semne de interdictie.
Pe langa reglementarile naţionale, regionale şi locale, ar trebui să se faca referire şi la [11].

18.2 Consilieri, responsabili si inspectori pentru protecţia fata de radiaţii

În locurile unde se lucreaza cu radionuclizi, laboratorul va solicita recomandari de la Consilierul pentru protecţia împotriva radiaţiilor (RPA)[N4)] autorizat local, asupra metodelor de protecţie si a cerin{elor legislative si va institui masurile adecvate care sa permita respectarea recomandarilor primite, incluzand standardele necesare asupra modelului de laborator şi echipamentelor.

Laboratorul va numi un Responsabil cu protectia faţă de radiatii (RPO)[N5] care va raporta RPA. RPO trebuie sa aiba responsabilitati particulare de proiectare a programului operational de protectie contra radiatiilor, de implementare si mentinere a sa.

Responsabilul cu protectia fata de radiatii va raporta managerial conducerii laboratorului şi profesional Consilierului pentru protectia împotriva radia{iilor.

Laboratorul va numi Inspectorii pentru protectia împotriva radiatiilor (RPSs)[N6] pentru a superviza activitatea de zi cu zi cu radiatiile ionizante, pentru a garanta utilizarea unor bune practici împotriva radiatiilor. RPSs raporteaza RPO al laboratorului.

Reglementari locale vor dicta utilitatea, rolurile si responsabilitatile RPA, RPO şi RPSs.

Acolo unde nu exista deja o cerinta reglementata se recomanda în mod expres formarea Comitetului de securitate împotriva radiatiilor.

NOTA 1 - RPA este o persoana calificata în mod adecvat care ocupă adeseori un post cu poziţie echivalenta cu aceea a conducerii laboratorului. Informatiile si recomandarile se schimba pe baza de consultanţă expert.

NOTA 2 - Alte cazuri se pot referi la pozitia RPA sub alt nume.

[N4] NOTA NAflONALA - RPA reprezintS abrevierea din limba englez5 a termenului “Radiation Protection Advisor".
[N5] (RPO)[N5] NOTA NAJIONALA - RPO reprezinta abrevierea din limba engleză a termenului “Radiation Protection Officer".
[N6] (RPSs)[N6] NOTA NATIONALA - RPSs reprezinta abrevierea din limba engleză a termenului “Radiation Protection Supervisors".

18.3 Monitorizarea spatiului de lucru

Trebuie stabilit un program de monitorizare sistematica care sa garanteze ca se întreprinde o monitorizare amanuntita si frecventa a locului de munca. Trebuie tinute înregistrari asupra monitorizarii.

Trebuie elaborat si adoptat un protocol pentru curatenia şi decontaminarea zilnica.

Utilizarea radionuclizilor trebuie revizuita cu regularitate, metodele de lucru trebuie monitorizate frecvent si modificate asa cum impun RPA si RPO. Actiunile de remediere sau modificarile procedurale trebuie înregistrate şi tinute pe perioada de timp prevazuta de statut sau de regulile aprobate pe plan local.

Deseurile radioactive trebuie *sa* fie marcate si tinute într-un depozit sigur si protejat contra radiatiilor, creat special în acest scop, astfel încât sa existe indicatii clare asupra naturii şi nivelului de risc pentru fiecare ambalaj eliminat. Depozitarea si eliminarea trebuie determinate de legislatia şi regulile locale.

18.4 Surse de lumina UV si laser (inclusiv lumina din alte surse de mare intensitate)

Acolo unde se lucreaza cu lumina UV sau cu surse de lumina laser, trebuie sa se asigure echipament personal de protectie adecvat, trebuie afisate simboluri corespunzatoare şi trebuie asigurata instruirea în vederea utilizarii sigure a echipamentului. Aceste surse de lumina trebuie sa fie utilizate doar pentru scopul pentru care au fost create.

Carcasele pentru aceste surse de lumina trebuie sa fie deschise numai de personalul de întretinere calificat sa lucreze cu astfel de echipament.

18.5 Echipament cu microunde

Echipamentul cu microunde trebuie inspectat, monitorizat si reparat cu regularitate pentru a se garanta mentinerea standardelorde performanţă si securitate.

Acolo unde dispozitivele cu microunde si radiounde de mare putere necesita precautii suplimentare, ele trebuie sa contina scuturi suplimentare si carcase de protectie. Cand se stabileşte amplasamentul acestor dispozitive trebuie sa se tina seama de posibilitatea interferentei cu performanta altor piese de echipament. Trebuie afisate semne de avertizare cu privire la efectele acestor dispozitive asupra persoanelor care poarta stimulator cardiac. Persoanelor care au adaptat stimulator cardiac trebuie sa li se interzica accesul în imediata vecinatate a dispozitivelor cu microunde si radiounde de mare putere.

În echipamentele cu microunde nu trebuie plasate substante inflamabile.

19 Protectie împotriva incendiilor

19.1 Constructie

Specificatiile arhitecturale trebuie sa fie bazate pe tipul de risc al laboratorului. Trebuie proiectate căi de evacuare primare.

Laboratoarele medicale din spitale trebuie separate de zonele medicale prin construcţii rezistente la incendii. Acolo unde sunt depozitate gaze inflamabile, trebuie instalate lumini şi întreruptoare rezistente la aprindere sau protejate împotriva aprinderii. Echipamentul electric ar trebui proiectat în mod special pentru utilizarea în astfel de zone.

19.2 Ieşiri secundare

Trebuie sa existe ieşiri secundare care sa asigure evacuarea personalului din laborator în conditii de securitate.

Ieşirile în caz de incendiu trebuie sa se deschida într-o zona protejata împotriva incendiilor.

19.3 Sisteme de alarma

Pentru fiecare laborator în care se lucreaza sau se depoziteaza gaze sau lichide inflamabile trebuie sa se asigure sisteme de detectare automata a fumului si caldurii precum si sisteme de alarma.

Sistemele de alarma ar trebui verificate cu regularitate pentru a se garanta functionarea lor si pentru a familiariza întregul personal cu actionarea lor.

19.4 Strategii de reducere a riscului de producere a incendiilor

În zonele tehnice ale laboratorului trebuie tinute doar cantitatile minime de gaze si lichide

inflamabile.

NOTA - fn unele cazuri, prin “cantitate minima" se mtelege consumul dintr-o singura zi.

Gazele si lichidele inflamabile trebuie sa fie utilizate doar în spatii bine aerisite.

Lucrarile care presupun eliberarea de vapori inflamabili trebuie realizate numai în hota sau incinta pentru vapori.

Lichidele si gazele inflamabile trebuie tinute la distanta de sursele de foc, inclusiv de motoarele electrice si lumina solară directa.

Aprovizionarea cu gaze prin conducte necesita instalarea supapelor de închidere în caz de urgenta, în conformitate cu reglementarile nationale, regionale si locale.

Trebuie sa existe la îndemăna truse de intervenţie care sa tina sub control cantitatile minime de scurgeri inflamabile.

In cazul unei scurgeri, trebuie cerut imediat ajutorul departamentului de paza Tmpotriva incendiilor. Se voraplica reglementarile nationale, regionale §i locale.

19.5 Depozitarea substantelor inflamabile

Containerele pentru lichide si gaze inflamabile trebuie ţinute în numar cat mai mic posibil, compatibil cu necesitatile laboratorului.

Containerele pentru lichide inflamabile trebuie pastrate închise, exceptand timpul cand sunt utilizate.

Lichidele si gazele inflamabile trebuie depozitate numai în incinte sau în depozite aprobate. Depozitarea trebuie sa respecte standardele nationale.

Lichidele inflamabile refrigerate trebuie depozitate numai în frigidere care nu produc scantei “făra risc de explozie".

NOTA - Frigiderele casnice nu sunt adecvate în acest scop.

Containerele metalice pentru depozitarea lichidelor inflamabile trebuie asigurate si asezate pe un teren obişnuit pentru a evita încarcarea statica.

Pentru depozitarea, transportul si repartizarea lichidelor inflamabile trebuie sa se utilizeze containere portabile sigure.

Decantarea sau transferul lichidelor combustibile din Containerele de depozitare în containere mici trebuie realizata într-o camera de depozitare rezervata special în acest scop sau într-o hota pentru vapori chimici. Containerele metalice trebuie asezate corect pe pamant.

19.6 Programe de instruire pentru protectia Impotriva incendiilor

Trebuie sa se asigure instruirea tuturor persoanelor care lucreaza în laborator si a persoanelor din cladire. Aceasta trebuie sa includa:

a) recunoasterea si evaluarea riscurilor de incendii,

b) planificarea reducerii riscului de incendii, şi

c) toate actiunile ce trebuie întreprinse cand izbucneste un incendiu.

19.7 Echipament pentru stingerea incendiilor

Trebuie sa existe echipamentele adecvate pentru stingerea incendiilor şi pentru a ajuta la evacuarea personalului din vecinatatea unui incendiu major.

Personalul de laborator are responsabilitatea de a asigura securitatea oamenilor prin evacuarea în ordine si nu prin încercarea de a stinge incendiul.
Selectarea, localizarea şi mentenanţa extinctoarelor si a păturilor ignifuge trebuie sa fie adecvate pentru toate tipurile de incendii posibile într-un laborator si conforme cu autorităţile locale pentru incendii

20 Evacuari in caz de urgenta

Trebuie elaborat un plan de actiune pentru evacuarea in caz de urgenţă (a se vedea anexa A pentru mai multe informatii asupra elaborarii planurilor de acjiune). Ca alternative, planul trebuie sa ia In considerate urgentele chimice, incendiile si urgentele microbiologice. Aceasta va

include măsurile de luat pentru a lasa o cladire neocupata Intr-o stare cat mai sigura posibil.

Tot personalul, inclusiv vizitatorii trebuie sa cunoasca planul de actiune, caile de ie§ire si punctele de adunare pentru evacuarea de urgenta.

Tot personalul va participa cel puţin o data pe an la un exercitiu de salvare in caz de incendiu.

21 Echipament electric

Echipamentul actionat electric trebuie proiectat si confectionat în conformitate cu cerintele adecvate de securitate. Standardele recunoscute includ seriile ISO/IEC 61010, *Cerinte de securitate pentru echipamentul electric de masurare, control şi utilizare in laborator* (a se vedea Bibliografia). Pentru a garanta securitatea, unele parti ale echipamentului trebuie conectate la surse de alimentare de rezerva.

Echipamentul nou, modificat sau reparat nu trebuie sa fie pus In functiune pana cand o persoana competentă (adica un electrician calificat sau un inginer biomedical) nu a efectuat testele de securitate electrica si nu este multumit de securitatea prezentata de echipament pentru utilizare.

Cei care utilizează un echipament electric trebuie instruiti în legatura cu utilizarea sa corecta si sa-l manipuleze în asa fel încat sa nu fie compromisa securitatea electrica.

NOTA - Pentru unele aplicatii poate fi necesar un echipament rezistent la udare sau care nu emite scantei (securitate intrinseca).

Cei care utilizeaza un echipament electric trebuie sa inspecteze în mod curent echipamentul Impotriva distrugerii, care ar putea determina scurt-circuite electrice.

Daca lichidul conductor este varsat accidental pe echipament, acesta din urma trebuie deconectat de la sursa de electricitate si uscat cu grija. Acesta nu trebuie reutilizat pana când nu se va obtine avizul unei persoane competente. Trebuie urmate masurile de decontaminare ale echipamentului pentru a reduce riscul de expunere la contaminare chimica sau biologica pentru personalul de întretinere (a se vedea si capitolul 13, anexa A si anexa C).

Cu echipamentul si circuitele electrice trebuie sa aiba permisiunea sa lucreze numai persoanele competente. Lucrările neautorizate trebuie interzise.

22 Transport probe

Conducerea laboratorului sau o persoana desemnata, de exemplu responsabilul cu securitatea, trebuie sa fie responsabil de modul de directionare si dirijare corecta spre toate locurile care trimit probe la laborator.

Toate probele trebuie sa fie transportate la laborator în aşa fel încât sa împiedice contaminarea angajatilor, a pacienţilor sau a mediului.

Probele trebuie sa fie transportate In containere autorizate, sigure, etanse.

Probele trimise în spatiile unei cladiri trebuie sa se conformeze regulilor cladirii respective pentru transportul în siguranţa. Probele trimise în exteriorul clădirii trebuie să fie conforme cu reglementarile privitoare la transportul materialelor infecţioase şi a altor materiale de origine biologica.

Probele, culturile si alte materiale biologice transportate între laboratoare sau alte spatii trebuie sa fie trimise în conformitate cu regulile de securitate ale acestora. Acolo unde este posibil, sunt aplicabile reglementarile internationale şi nationale care tin de transportul materialelor periculoase pe sosele, calea ferată şi pe cale maritima.
Materialele apreciate de standardele nationale sau internationale ca marfuri periculoase destinate transportului national sau international pe calea aerului trebuie ambalate, etichetate si documentate cu respectarea reglementarilor sau cerintelor nationale si internaţionale curente.

23 Eliminarea deşeurilor

Eliminarea deseurilor de laborator trebuie efectuata în conformitate cu reglementarile nationale, regionale sau locale.

Tratarea deseurilor de laborator trebuie sa aiba urmatoarele obiective:

a) reducerea la minimum a riscurilor de manipulare, colectare. transport, tratare şi îndepartare a deşeurilon şi

b) reducerea la minimum a efectelor periculoase pentru mediul înconjurator.

Toate probele, culturile si alte materiale biologice care nu mai sunt necesare trebuie îndepartate în containere speciale, destinate şi marcate pentru îndepartarea deşeurilor periculoase. Containerele pentru deseuri biologice nu trebuie umplute peste capacitatea proiectata.

Obiectele ascutite, printre care se nurnara acele, bisturiele, metalele şi sticla trebuie aruncate direct în containere rezistente la perforare.

Conducerea laboratorului trebuie sa se asigure ca deşeurile nocive sunt manipulate de personal instruit corespunzator, care utilizeaza echipamentul personal de protectie adecvat.

Gunoiul şi deseurile de laborator nu trebuie lasate sa se acumuleze. Containerele pline trebuie scoase în mod regulat din zonele de lucru. Ele trebuie tinute într-un loc sigur, în zona laboratorului, înainte de decontaminare sau îndepartarea finala. Gunoiul de laborator sau deseurile de hartie zilnice care nu au fost contaminate cu reactivi sau cu lichide organice pot fi manipulate ăi prelucrate ca deşeuri nepericuloase. Indepartarea adecvata şi sigura trebuie sa se faca cel putin o data pe zi.

Toate probele din laboratorul de microbiologie, culturile şi deşeurile contaminate trebuie securizate din punct de vedere biologic înainte de a fi scoase din laborator.

Securizarea biologica poate rezulta prin autoclavare sau prin alta tehnologie aprobata, sau prin ambalare în containere adecvate.

Transportul deşeurilor care nu au fost tratate, poate fi permis cu conditia ca materialul sa fie ambalat şi transportat într-un loc unde trebuie îndepartate în condiţii de securitate, potrivit regulilor pentru deşeuri periculoase.

Deşeurile de laborator cunoscute ca nefiind contaminate pot fi manipulate si prelucrate ca deseuri nepericuloase.

Anexa A
(inform ativa)

Schema planului de actiune pentru jmplementarea acestui standard international

A.1 Introducere

Acest standard international este destinat utilizarii in toate laboratoarele medicale, de la laboratoarele din teren cu resurse (imitate, la institutiile importante de cercetare şi învăţământ. Aceasta anexa este menita sa serveasca ca ghid pentru implementarea acestui standard international, în special pentru aceia cu resurse limitate. Adeseori, multe dintre etapele necesare pentru a îmbunatati securitatea costa foarte putin, presupunand doar modificări minore la nivelul practicilor de operare.Rareori sunt necesare solutii radicale cu cost ridicat. Luarea unor decizii logice bazata pe expertiza profesionala poate stabili şi mentine un sistem de lucru sigur.

A.2 Instituirea sistemului de securitate

A.2.1 Etapa 1: Conducerea

Se desemneaza un responsabil cu securitatea laboratorului cu suficienta experienta pentru a rezolva problemele de securitate. Acestei perspane trebuie sa i se acorde o perioada de timp suficienta pentru a aborda problemele de securitate. Într-un laborator mic, aceasta perioada de timp poate sa fie minima, dar ea poate sa se mareasca odata cu complexitatea laboratorului.

A.2.2 Etapa a 2-a: Identificarea pericolelor

Lucrand cu personalul de laborator cu experienta, responsabilul cu securitatea trebuie sa întocmeasca o lista a pericolelor care exista sau care s-ar putea produce în laborator sau care ar putea rezulta prin activitatea acestuia. Este important sa fie incluse problemele care nu-si au originea în laboratorul însuşi, de exemplu acelea legate de structure cladirii sau de mediul exterior.

A.2.3. Etapa a 3-a: Evaluarea riscului

Responsabilul cu securitatea, în stransa legatura cu personalul de laborator cu experienta, trebuie sa evalueze nivelul de risc asocial fiecarui pericol în parte, atat intrinsec pericolului însusi cat si ca o componentă a unui grup de pericole asociate. Evaluarea riscului necesita evaluarea pericolelor specifice pentru operatiune si pentru mediu. Trebuie sa se înregistreze nivelul de risc perceput, cine poate fi afectat, cu ce consecinte şi cu ce grad de severitate.

A.2.4. Etapa a 4-a: Stabilirea prioritatii riscurilor

Ca parte a etapei a 3-a, vor fi identificate caile posibile pentru reducerea nivelului de risc. Lucrand cu personalul de laborator cu experienta, responsabilul cu securitatea trebuie sa stabileasca prioritatea riscurilor, în functie de cele care necesita strategii de reducere imediată, intermediară sau pe termen lung. Aceasta trebuie sa se bazeze pe potentialul de nocivitate, nu pe baze economice, desi aceasta componentă nu poate sa fie ignorata. Pot exista unele situatii în care trebuie se ia o hotarare dificila pentru încetarea unei anumite activităti, deoarece riscurile sunt atat de mari încât nu pot sa prevaleze asupra posibilului beneficiu.

A.2.5. Etapa a 5-a: Reducerea riscului

În laboratorul medical există întotdeauna riscuri. Scopul trebuie să fie reducerea riscului în cea

mai mare masura posibila, ţinand seama de toţi factorii implicati. Trebuie elaborate si implementate planuri de actiune pentru reducerea riscului (riscurilor) la un nivel acceptabil pâna la o dată tinta agreata de toate partile implicate, atat în laborator cat si cu celelalte persoane afectate de operarea sa. Actiunile programate si implementate sunt responsabilitatea personalului de laborator cu experienţa, consiliat si asistat de responsabilul cu securitatea. Deciziile luate îi actiunile propuse trebuie sa fie înregistrate cu grijă, împreuna cu informatiile de sustinere în legatura cu modul fn care a fost realizată actiunea.

A.2.6. Etapa a 6-a: Revizuirea strategiilor de risc

Ca parte a strategiilor de reducere a riscurilor trebuie sa existe o monitorizare atenta a implementarii planului de actiune. Programul trebuie sa fie îmbunataţit in mod constant in ceea ce priveşte procesul de reducere a riscului. Acesta trebuie sa implice tot personalul din laborator, deşi implementarea depinde de pozitia favorabila exercitată de catre personalul de laborator cu experienja şi de dirijarea competenta de catre responsabilul cu securitatea.

A.3 Mentinerea sistemului de securitate instituit în laborator

Se recomanda instruirea regulata a personalului de laborator. Trebuie sa se pastreze înregistrari despre frecventa şi program.

Se recomanda programarea regulata a unor audituri de securitate sj/sau a inspectiilor locului de munca (atat în zonele analitice cat şi în cele neanalitice). Acestea trebuie tinute anual, iar în zonele cu risc ridicat la intervale mai frecvente. Trebuie pastrata o documentare atenta. Anexele acestui standard international contin tabele de control detaliate pentru a ajuta la acest proces.

Manualele de instruire, metodele şi ghidul operational trebuie sa includa informatii de securitate relevante care sa fie atat practice cat şi complet operationale. Aceste informatii trebuie tinute la zi.

Toate echipamentele şi procesele noi trebuie evaluate în ceea ce priveşte riscul, atat înainte cat şi dupa autorizare şi trebuie implementate corect strategii de reducere a riscurilor.

Incidentele şi accidentele nefavorabile trebuie sa fie investigate complet, documentate şi trebuie luate masuri de reducere a posibilitatii de reaparitie.

Tot personalul trebuie stimulat sa identifice riscurile potentiale şi sa lucreze astfel încât sa nu se expuna şi sa nu-i expuna nici pe altii la risc.

Anexa B
(inform ativa)

Auditul pentru securitatea laboratorului

B.1 Generalitati

Tabelele urmatoare sunt tabele de control pe articole destinate sa ajute procesul de audit.

Tabelele de la B.1 pana la B.4 asigura conformitatea cu standardele şi sunt concentrate asupra personalului de management al laboratorului.

Tabelele de la B.5 pana la B.10 ajuta la auditarea caracterului exact al cunostintelor despre securitate si a practicilor de activitate în siguranta în randul personalului operativ.

B.2 Instructiuni

a) Se urmaresc instructiunile de pe fiecare pagina:
- se indica D (da), N (nu) sau NA (nu se aplica) în coloana a doua, a treia sau a patra;
- se raspunde la toate întrebarile; şi
- se enumera, se explica si/sau se clarifica raspunsurile in ultima coloana.

b) Daca pe formular nu este suficient spatiu pentru toate informatiile necesare:
- se includ informatiile pe o pagina separata;
- se ataseaza la acest formular; şi
- se indica pe formular faptul ca sunt atasate informatii suplimentare.

c) Va fi necesara reactualizarea politicilor şi procedurilor în urmatoarele situatii:
- cand se adauga sarcini si proceduri noi care afecteaza expunerea profesionala; sau
- cand se schimba sau se modifica sarcinile si procedurile care afecteaza expunerea profesionala.

Asigurati-va ca sunteti in conformitate cu fiecare detaliu pe care-l verificati sau intalniti

Tabelul B.1 - Practica de lucru /mijioace tehnice de control

In acest departament se folosesc urmatoarele practici de lucru / mijioace tehnice de control	**D**	**N**	**NA**	**Comentarii/ explicatii**
1 In zonele de lucru unde se poate produce infecţia cu sange/lichide organice exista bazine pentru spalarea mainilor. - Bazinele pentru spalarea mainilor sunt utilizate pentru aruncarea sangelui / fluidelor organice. Daca da, explicati.				
2 In cazurile în care utilitajile de spalare a mainilor nu sunt la îndemana, exista antiseptice pentru maini si prosoape curate sau hartie prosop. Indicaji metoda utilizata.				
3 Spalarea mainilor este necesara în urmatoarele situatii: daca mainile se contamineaza cu sange sau lichide organice; cand se scot manusile; si cand se trece de la un pacient la altul Este urmata aceasta politica? Daca nu, dati explicatii.				
4 In acest departament este interzisa Tn toate cazurile reacoperirea obiectelor ascutite, Tncovoierea si ruperea acelor? Daca nu, a se vedea 4 a). 4a) Acele trebuie acoperite prin procedurile enumerate. 4b) Metoda de acopen're este: - manual, cu o cuva cu maner (reacoperire pasiva) - este utilizat un dispozitiv de acopen're ; sau alta metoda (descrieti metoda pe care o utilizati).				
5 Pentru îndepartarea obiectelor ascuţite exista containere etanse, rezistente la perforare, cu etichete adecvate sau cu cod de culoare. Daca nu, dati explicatii.				
6 În laborator exista obiecte ascutite reutilizabile? Va rugam sa le enumerati. 6a) Obiectele ascuţite reutilizabile contaminate cu sange sau alte materiale infectioase sunt procesate şi depozitate astfel încat personalul sa nu aiba acces în containerele pentru obiecte ascutite.				
7 Manipularea obiectelor ascutite: Dupa utilizare toate obiectele ascutite (ace, bisturie, pipete capilare, lame, lamele, pipete de unica folosinta si alte obiecte ascutite) sunt plasate în containere rezistente la perforare în vederea reprelucrarii sau a aruncarii. Angajatii au fost instruiti în efectuarea acestor proceduri si au fost instruiti sa nu umple excesiv aceste containere.				
8 In zonele unde exista risc de contaminare profesionala este interzisa consumarea alimentelor, a bauturilor, aplicarea cosmeticelor si manipularea lentilelor de contact. Angajatii au fost informati despre aceasta regula si se conformeaza.				
Laborator este interzisa pipetarea cu gura. 9a) În laborator exista dispozitive de pipetare mecanica.				
10 In spatiile unde se pastreaza sange si alte materiale potential infectioase este interzisa depozitarea alimentelor si bciuturilor pentru consum. Aceasta se aplica Tn cazul frigiderelor, congelatoarelor, rafturilor, cabinetelor, masinilor de calcul si meselor de lucru. Angajatii au fost informati despre aceasta regula si se conformeaza.				

Tabelul B.1 - Practice de lucru / mijloace tehnice de control
(continuare)

In acest departament se folosesc urmatoarele practici de lucru / miiloace tehnice de control	D	N	NA	Comentarii/ explicatii
11 Manipularea probelor: Pentru toate probele se utilizeaza containere primare ermetice. 11 a) In timpul transportarii, toate probele (sange sau alte materiale potential infectioase) sunt introduse in containere secundare ermetice. La exteriorul containerului secundar se ataseaza solicitarile. 11b) Cand ambalajele care conjin sange sau alte materiale potential infectioase sunt trimise din laborator la alte adrese ele sunt Tmpachetate adecvat si la exterior se aplica o eticheta biohazard. 11c) Sistemul de tuburi pneumatice: Angajatii sunt instruiji asupra ambalarii adecvate a tuburilor transportoare pentru a transporta probele fara scurgeri ale continutului.				
12 Echipamentul care se contamineaza cu sange sau alte materiale potential infecfioase se decontamineaza imediat sau cat mai curand posibil. 12a) Echipamentul este inspectat sj Tnainte de a fi reparat sau expediat si se decontamineaza daca este posibil. Daca nu poate fi decontaminat Tnainte de a fi reparat sau transportat, personalul este instruit sa ata§eze o eticheta biohazard care identified locul (locurile) de contaminare.				
13 Deşeurile uzuale: Exista containere închise ermetic, etichetate sau cu cod de culoare adecvat. 13a) Fluidele organice (urina, voma, fecalele) sunt îndepărtate adecvat printr-un sistem de canale colectoare igienice. 13b) Containerele cu fluide organice (recoltare sputa, pungi de sange, tuburi de aspiratie) sunt introduse în containere pentru deseuri cu pericol biologic în vederea incinerarii sau îndepartarii prin alta metoda aprobata. 13c) Probele de laborator sunt introduse în pungi adecvate pericolelor biologice (autoclavabile, daca este cazul) în containere cu capace închise etans. 13d) Cand este posibil, probele de laborator sunt autoclavate înainte de a fi aruncate. 1 3e) Daca pentru tratamentul deseurilor se folosesc autoclave, acestea sunt monitorizate în mod regulat cu indicatori biologici. Mentionati cat de des se face monitorizarea. 13f) Tesuturile, organele si alte parti ale corpului sunt introduse în containere pentru deseuri cu rise biologic şi trimise la incinerare sau îndepartare prin alte metode aprobate.				
14 Alte deseuri solide (manusi, pansamente) se introduc în pungi de plastic rezistente şi se închid etans în vederea transportului.				
15 Procedurile care pot produce stropiri, pulverizaii sau împroşcari cu sange sau lichide organice se desfasoara într-un cabinet de securitate biologica sau în spatele unui paravan protector. Va rugam sa enumerati procedurile. 15a) Cabinetele de securitate biologica se inspecteaza anual.				
16 Angajatii dispun de politici de securitate scrse ale laboratorului pentru controlul infectiilor. 16a) Pentru angajati exista un plan de control al expunerii la infecţii în laborator sau in spital. 16b) Pentru toji angajatii există o copie a unei publicaţii nafionale sau internationale cu privire la protecţia laborantilor fata de infectiile dobândite profesional.				

Tabelul B.2 - Echipamentul personal de protectie (PPE)

Pentru cei care lucreaza Tn acest departament sunt disponibile gratuit urmatoarele PPE rezistente la	**D**	**N**	**NA**	**Comentarii/ explicatii**
1 Pentru toate persoanele expuse la rise de infecţie exista manuşi de unica folosinja, de marimea potrivita, utilizabile la discreţie sau dupa necesitati. 1 a) Manuşile sunt purtate: - în timpul contactului cu sange sau fluide organice, membrane mucoase sau leziuni tegumentare ale pacientilor? - cand se manipuleaza obiecte sau suprafete murdare de sange sau fluide organice? - cand se efectueaza proceduri cu acces vascular (flebotomie)?				
2 Pentru toti angajatii alergici la mănuşile din latex exista manuşi şi captuşeli hipoalergice.				
3 La nevoie exista manusi, inspectate înainte de utilizare şi înlocuite daca este cazul.				
5 Este necesara protejarea fetei? 4a) Daca este necesara/ceruta protejarea fetei, sunt disponibile urmatoarele tipuri de mijloace de protectie (se indica toate care se aplica): - masca cu ochelari şi protectii laterale solide - masca şi ochelari de protecţie masca cu protecţie la stropire - protectie a fetei pana la nivelul barbiei Enumerati alte mijloace de protectie a fetei daca nu sunt enunjate.				
5 Este necesara îmbracaminte pentru protectia corpului? 5a) Tip (tipuri) de îmbracaminte de protectie disponibila (indicati tot ce se utilizeaza): - jachete clinice - halate - tunici de laborator - şorţuri Enumerati orice alte tipuri de îmbracaminte pentru protectia corpului disponibile.				
6 Este necesara încaltaminte şi articole pentru protejarea capului? 6a) Exista urmatoarele tipuri de articole pentru protejarea capului si de încaltaminte de laborator (verificati tot ce se foloseste): - bonete / glugi chirurgicale - învelitori pentru pantofi - scurte pana la nivelul genunchiului. Enumerati alte articole de Tncaltaminte sj protejare a capului disponibile.				

Tabelul B.2 - Echipamentul personal de protectie (PPE) (continuare)

Pentru cei care lucreaza in acest departament sunt disponibile gratuit urmatoarele PPE rezistente la lichide	**D**	**N**	**NA**	**Comentarii/ explicatii**
7 Îmbracamintea de protectie reutilizabila se curata prin una din metodele urmatoare? - la spalatoria spitalului - la spalatorii din afara spitalului Daca se utilizeaza un serviciu extern, dati urmatoarele informatii: numele serviciului; adresa; obiectele procesate de serviciui respectiv şi daca serviciul întruneste standardele corespunzatoare.				
8 Este necesar echipament de resuscitare? 8a) Tipurile de echipament de resuscitare disponibile sunt: - respiratoare - pungi de resuscitare Enumerati alte echipamente disponibile.				
9 PPE mentionate mai sus exista in toate punctele de lucru unde sunt necesare si se întretin cu regularitate.				

Tabelul B.3 - Curatenia

Articolul	**D**	**N**	**NA**	**Comentarii/explicati**
1 Angajatii decontamineaza suprafetele de lucru cu dezinfectantul corespunzator imediat dupa terminarea lucrarilor, la terminarea turei si cât mai curand dupa contaminarea cu sange sau fluide organice.				
2 Stropi de sange si fluide organice. 2a) Sticla sparta: Personalul a fost instruit sa nu adune niciodata cu mana sticlaria de laborator spartă care ar putea fi contaminata 2b) Pentru adunarea cioburilor exista perie, făraş, forceps şi /sau cleşte 2c) Procedurile urmatoare sunt folosite în mod curent pentru curatarea stropilor de lichide? - Acoperirea stropilor cu material absorbant (hartie prosop) - Decontaminarea zonei cu un dezinfectant adecvat - Înlaturarea corespunzatoare a materialelor contaminate				
3 Exista si este la îndemana dezinfectant în orice moment. Enumeraţi va rugam dezinfectantii utilizati pentru decontaminarea stropilor de sange şi de lichide organice în acest laborator.				

Tabelul B.3 - Curafenia (continuare)

Articolul	D	N	NA	Comentarii/explicatii
4 Rufaria: Personalul trebuie instruit sa considere toate rufaria utilizata ca fiind potential infectioasa si sa poarte PPE adecvat cand manipuleaza rufele folosite. 4a) Personalul a fost instruit sa manipuleze rufele folosite cat mai pu{in posibil. 4b) Personalul a fost instruit sa introduce[hainele direct]n sacii standard pentru rufe. 4c) Personalul a fost instruit sa dubleze sacii daca este necesar pentru a impiedica scurgerile de lichide.				
5 Exista semne de avertizare pentru pericol biologic pentru identificarea urmatoarelor materiale contaminate: - containere utilizate pentru a depozita sau transporta materialele contaminate, inclusiv transportoare de tuburi pneumatice; - containere utilizate pentru a depozita si transporta deşeurile medicale obisnuite; - frigidere şi congelatoare în care se depoziteaza materiale potential infectioase 5a) La intrarea în laborator sunt prezente semne de avertizare pentru pericol biologic 5b) Etichetele biohazard sunt aplicate pe echipamentul general accesibil (telefoane, terminale ale calculatorului, etc.) utilizate de persoanele care poarta manusi. Nimeni nu trebuie sa utilizeze aceste echipamente fara sa poarte manusi.				

Tabelul B.4 - Expuneri

Articolul	D	N	MA	Comentarii/explicati
1 Angajatii ştiu ce sa faca daca sufera expunere subcutananta prin piele cu leziuni sau expunere mucocutanata? 1a) Este disponibil un protocol scris pentru supravegherea expunerii la infectie, adica parte a Planului de control al expunerii sau Manualul de control al infectiilor din laborator / spital?				

Tabelul B.5 - Rezultatui expunerii / instruirea / acceptul la vaccinare

Articolul	D	N	NA	Comentarii/explicati
1 Ati primit si revizuit raportul acceptului Programului pentru agenti patogeni transmisi prin sange, distribuit de Departamentele pentru securitate profesionala sau a mediului, pentru documentarea asupra rezultatului expunerii, a instruirii si a acceptului la vaccinare? 1a) Daca aţi raspuns nda" ati luat masurile de a asigura acceptui tuturor angajatilor?				

Tabelul B.6 - Informare şi instruire

Articolul	D	N	Comentarii
1. Cunoasteti amplasarea si conţinutul urmatoarelor documente? - Planul de securitate chimica - Posterul pentru securitate chimica - Fisele tehnice pentru securitatea materialelor - Ghidul de raspuns în caz de urgenta			
2 S-a facut instructajul privind securitatea/ocrotirea sanatatiiTn laborator?			

Tabelul B.7 - Proceduri standard de operare

Achizitionarea	D	N	Comentarii
1 Cand procurati substante chimice: - tineti seama de riscurile potentiate ale substantelor chimice? - alegeti substantele chimice cel mai putin nocive pentru procedura? - va asigurati ca toate containerele cu substante chimice sunt etichetate corect?			
Distributia	**D**	**N**	**Comentarii**
2 Pentru a reduce accidentele în timpul transportului: - utilizati un vas de transport sau un container secundar? - utilizati drumurile cel mai putin circulate? - utilizati PPE când este indicat acest lucru?			
Depozitarea	**D**	**N**	**Comentarii**
3 Dumneavoastra - întelegeti si urmati recomandarile privind depozitarea substantelor chimice dupa codul de culoare de pe eticheta containerului? - depozitati substantele chimice în functie de clasa de risc? - evitati depozitarea substantelor chimice într-o zona deschisa sau pe coridoare, culoare si scari?			
4 Cunoasteti motivul(ele) pentru care este nevoie sa depozitati substantele chimice în functie de clasa de risc?			
5 Ştiti de ce nu este bine sa depozitati substanjele chimice în hota de vapori chimici?			
Indepartarea deşeurilor	**0**	**N**	**Comentarii**
6 Respectati Politica pentru deseuri a Laboratorului /Spitalului?			
7 In caz contrar, cum îndepartati deşeurile periculoase din laborator?			

Tabelul B.7 - Proceduri standard de operare (continuare)

Proceduri cu rise potential ridicat	D	N	Comentarii
8 Efectuati în laboratorul dvs. una dintre urmatoarele actiuni? - cantariri/prepararea de soluţii stoc; - manipulare de acizi/baze concentrate; - activitati de presurizare; - spalari cu solventi; - încalzirea/racirea substantelor chimice; - utilizarea substantelor chimice reactive; - manipularea substantelor deosebit de periculoase.			
9 Daca raspundeti cu da, enumerati masurile de precautie pe care le luati.			
10 Mentinefl un inventar la zi al substantelor deosebit de periculoase?			
Protocoale pentru risc ridicat	**D**	**N**	**Comentarii**
1 1 Cand se lucreaza cu substante deosebit de periculoase vă asigurati ca se aplica urmatoarele reguli de securitate? - a fost stabilita o zona de lucru speciala; - exista si sunt utilizate dispozitive de siguranţa; - exista proceduri adecvate şi sigure de eliminare a deseurilor; - au fost notificate autoritatile competente; - sunt afisate semne adecvate si explicite; - exists masuri adecvate pentru interzicerea intrarii persoanelor neautorizate în vecinatatea substanţelor periculoase.			
12 Sunteti constient ca aceste activitati trebuie aprobate în prealabil? - activitatea cu produşi care prezinta risc de inhalare de vapori foarte/extrem de toxici atat în interiorul cat şi în exteriorul dispozitivelor de siguranta; - activitatea cu compusi puternic reactivi / instabili			

Tabelul B.8 - Controlul expunerilor

Potentialul de risc	**D**	**N**	**Comentarii**
Lucrati cu substante chimice foarte volatile şi/sau cu pulberi foarte fine?			
2 Daca da, sunteti constienti de potentialul de risc?			
Masuri de control	**D**	**N**	**Comentarii**
3 Utilizati unul dintre urmatoarele mijloace tehnice de control? - hota de vapori chimici - alta ventilatie pentru evacuare locala			
4 Hota dvs pentru vapori chimici are un indicator de performanta?			
5 Daca da, stiti sa utilizati si sa interpretati indicatorul de performanta al hotel pentru vapori chimici?			
6 Ştiti cum sa informal! departamentul de întretinere cand hota se afla în afara parametrilor normali de operare?			
7. Mentineti materialele şi echipamentul la cel putin 10 cm distanta de fata hotei?			
8 Mentjneti Tnaltimea cadrului mobil al ferestrei cat mai jos posibil?			
Protectia respiratiei	**D**	**N**	**Comentarii**
9 Una dintre procedurile din laborator necesita utilizarea protectiei respiratiei?			
10 Participati în mod curent la Programul de protectie din Spital/Laborator?			
PPE: Manuşile	**D**	**N**	**Comentarii**
11 Utilizati o schema de permeabilitate a manuşilor pentru selectarea celui mai potrivit material pentru procedurile specifice?			
12 Scoateti manusile în urmatoarele situatii? - cand raspundeti la telefon; - cand deschideti uşile laboratorului; - cand iesiti din laborator.			
PPE: tunica si halatul	**D**	**N**	**Comentarii**
13 Va scoateti tunica sau halatul cand ieşiţi din laborator?			
PPE: protectia ochilor / fetei	**D**	**N**	**Comentarii**
14 Au fost luate masuri pentru asigurarea unui punct pentru spîlarea ochilor Tn caz de urgentă, la 30 m (100 ft) de fiecare zona a laboratorului în care se utilizeaza substante chimice periculoase?			
15 Cunoasteti tipul adecvat de protectie a ochilor si fetei potrivit de a fi utilizat pentru o procedure specifica?			

Tabelul B.9 - Determinarea expunerii

Articolul	D	N	Comentarii
1 Cum procedati daca apare unul din urmatoarele simptome? - iritatia tegumentului/ochilor; - disconfort respirator sau senzatie de rau cand lucrati cu substante chimice; - eruptii tegumentare			
2 Faceti uz de simtul mirosului pentru a aprecia concentratiile substantelor chimice?			
3 §titi care sunt valorile limita sj limitele de expunere permisibile?			
4 Ştiti ca exista Biroul de securitate profesionala a mediului sau organizatii similare pentru evaluarea practicilor de lucru si efectuarea supravegherii aerului pentru substante chimice periculoase?			
5 Ştiti ca aveti dreptul la o evaluare a mediului din laborator de cate ori exista o preocupare în legatura cu activitatea cu substante chimice periculoase?			
Raspunsul la scurgerile chimice	**D**	**N**	**Comentarii**
6 Ştiti ce proceduri sa utilizati cand aveti o scurgere chimica în zona de lucru?			

Tabelul B.10 - Consultaţia medicală

Articolul	D	N	Comentarii
1 Ştiti ca aveti dreptul la consultatie medicala în urmatoarele situatii? - daca prezentati semne sau simptome de expunere la substante chimice; - daca sunteti prezenti în timpul varsarii unei substante chimice, în timpul unei scurgeri de substante chimice, al unei explozii sau al unei eliberari accidentale de vapori; - daca sunteti expuşi la o substanta chimica peste nivelul reglementat.			

Anexa C
(informativa)

Decontaminare, curatenie şi dezinfectie dupa varsarea unui produs

C.1 Generalitati

Aceasta anexa este destinata sa ajute la elaborarea protocoalelor specifice pentru decontaminarea, curatarea şi dezinfectarea echipamentului sau mobilierului de laborator medical cand accidentele sau scurgerile au avut ca rezultat contaminarea biologica, chimica sau radioactiva. Aceasta anexa poate ajuta si la dezvoltarea protocoalelor adecvate pentru pregatirea si securizarea din punct de vedere biologic a echipamentului înainte de verificare sau reparare. Procedurile care urmeaza sunt recomandate pentru decontaminarea scurgerilor de sange, de fluide organice sau de alte materiale infectioase (inclusiv a materialelor pentru culturi) care se produc în laboratorul medical. Scurgerile produse în alte locuri pot necesita modificarea acestor proceduri.

C.2 Decontaminarea scurgerilor

Factorii care influenteaza procedurile de decontaminare sunt:

a) volumul scurgerii;

b) fluidul organic care s-a varsat;

c) continutul de proteine;

d) agentul infectios prezent;

e) concentratia de agent infectios; şi

f) natura suprafeţei (poroasa sau rezistenta la apa).

Echipament personal de protectie

Se poarta manusi, halat şi protectie pentru fata. Deoarece aerosolii exista în mod inevitabil sau sunt creati în timpul curatarii petelor, se recomanda în mod deosebit protectia respiratorie. Se recomanda manusi groase. rezistente la perforare, cum sunt acelea pentru menaj şi spalarea vaselor.

Daca scurgerea contine sticla sparta sau alte obiecte, acestea trebuie îndepartate fara a folosi contactul cu mainile. Pentru manevrarea acestor obiecte pot fi folosite foi de carton rigide sau cupe de plastic de unica folosinta; se mai pot folosi clestele si forcepsul. Acestea trebuie aruncate, împreuna cu obiectele respective, în containere adecvate unui pericol biologic, rezistente la perforare.

Daca scurgerea este mare si/sau se pot contamina pantofii angajatului, trebuie purtate învelitori de protectie pentru pantofi, impermeabile la apa.

Cand se varsa medii şi materiale de culturi, locul trebuie acoperit complet cu un material absorbant (a se vedea C.4). Dupa o perioada de 10 minute, trebuie început procesul de curatare descris mai sus. Daca este posibil sa se fi format picaturi (de exemplu prin spargerea unui tub în centrifuga), echipamentul trebuie sa ramana închis eel putin 0,5 h pentru a lasa picaturile de sange/lichide organice sa se depuna înainte de a începe decontaminarea.

C.4 Masuri pentru absorbtia lichidului varsat

Deoarece majoritatea dezinfectanţilor sunt mai putin activi sau chiar ineficienţi în prezenta unor concentratii mari de proteine, ca cele aflate in sange sau in ser, masa de lichid scursa ar trebui absorbita înainte de decontaminare.

Se absoarbe lichidul scurs cu material absorbant de unică folosin{a (de exemplu hartie prosop, tampoane de tifon, etc.). Daca scurgerea este mare, pentru absorbţia lichidului se poate folosi material absorbant granular cum este cel folosit pentru absorbtia scurgerilor chimice caustice. Exista silica gel fin granulat care, atunci cand este presarat pe o pata, gelifica lichidul imediat. Masa gelatinoasa poate fi apoi razuita şi nu stearsa. Exista materiale absorbante granulare si silica geluri care contin o substanta chimica ce elibereaza clor dupa umectare. Eficacitatea unui astfel de material în procesul de decontaminare nu este cunoscuta si prin urmare nu trebuie sa serveasca ca baza pentru decontaminarea unei scurgeri. Dupa absorbtia lichidului, toate materialele contaminate trebuie aruncate în containerul de deseuri cu pericol biologic.

C.5 Decontaminarea locului unde s-a varsat un lichid

Se decontamineaza locul unde a avut loc scurgerea cu ajutorul unui dezinfectant de spital adecvat, ca de exemplu solutia apoasa 1/10 soda. Acoperiti locul unde s-a produs scurgerea cu prosoape de unica folosinta îmbibate în dezinfectant pentru a face locul “stralucitor de umed" şi apoi se lasa sa se usuce.

Nu se utilizeaza dezinfectanti slabi, cum ar fi sarurile cuaternare de amoniu. Dezinfectantii fenolici nu sunt recomandati pentru a fi utilizati pe dispozitivele medicale contaminate care vin în contact cu pacientii neprotejati sau cu personalul de laborator, dar pot fi utilizati pe aparate de laborator, podele şi pe masinile de calcul.

Se absoarbe solutia dezinfectanta cu materiale de unica folosinta. Alternativ, dezinfectantul poate fi lasat sa se usuce.

C.6 Curatarea locului de varsare a unui lichid

Dupa uscarea, absorbtia completă si decontaminarea zonei unde s-a varsat lichidul, se procedeaza la curatarea acesteia.

Se spala zona cu apa şi detergent pentru a îndeparta substantele chimice sau mirosurile toxice.

Se usuca locul unde s-a produs scurgerea, pentru a preveni alunecarea.

Se introduc toate materialele de unica folosinta utilizate pentru decontaminare într-un container adecvat pericolelor biologice. Se manevreaza materialul în acelaşi mod ca şi alte deseuri infectioase. Toate materialele reutilizabile trebuie sa fie decontaminate înainte de depozitare.

In toate zonele unde se pot produce scurgeri de lichide trebuie sa fie pregatita şi gata de utilizare “o trusa adecvata pericolelor biologice pentru scurgeri" care sa contina toate materialele si echipamentele de protectie necesare. Ar trebui sa existe şi un “carucior adecvat pericolelor biologice pentru scurgeri de lichide" pentru transport în afara laboratorului (de exemplu la patul pacientului, în cazul producerii unor scurgeri în timpul flebotomiei).

ICS 03.120.30

IRS
STANDARD ROMAN

SR ISO 7870

lunie 1999
Indice de clasificare U 32

FI§E DE CONTROL
Ghid general §i introducere

IDT ISO 7870:1993

Control charts-General guide and introduction

Cartes de controle-Principes genereaux et introduction a l'emploi

APROBARE — Aprobat de Directorul General al IRS la 30 octombrie 1998

CORESPONDENTA — Prezentul standard este identic cu Standardul International ISO 7870:1993, Fi§e de controKGhid general §i introducere

This standard is identical with the International Standard ISO 7870:1993, Control charts-General guide and introduction

La presente norme est identique a la Norme Internationale ISO 7870:1993, Cartes de controle-Principes genereaux et introduction a l'emploi

DESCRIPTORI TIT — Analiza statistica, controlul calitatii, controlul statistic al calitatti, controlul fabricatiei, fi§a de control, generalitati

INSTITUTUL ROMAN DE STANDARDIZARE (IRS), STR. Jean Louis Calderon 13-70201 Bucuresti. 2, Romania. TP(401)2107401; (401)2113296: TF(401)2100833

© IRS Reproducerea sau utilizarea integrals sau partial a prezentului standard in once pubhcatii 5! prin orice procedeu (electronic, mecan.c, fotocopiere, microfilmare, etc.) este interzisa dacS nu exists acordul scris al IRS

FISE DE CONTROL-GHID GENE.RAL SI INTRODUCERE

CUPRINS

Pagina

1 Domeniu de aplicare 3

2 Referinte normative 3

3 Defintyi 3

4 Generalitati 3

5 Fi§e de control prin masurare §i prin atribute 4

6 Limite de control 4

7 Subgrupuri rationale 5

8 Tipuri de fi§e de control 6

9 Fi§e de control Shewhart §i fi§e conexe 6

10 Fi§e de control pentni acceptare 9

11 Fi§e de control adaptabile 10

12 Riscuri asociate cu deciziile pe baza fi§elorde control-Criterii de eficacitate 10

13 Consideratii economice 11

Anexe

A Bibliografie 12

1 DOMENIU DE APLICARE

Prezentul Standard International descrie elementele cheie si filozofia abordarii fi§elor de control si identified o mare varietate de fise de control, inclusiv fisele de control Shewhart si cele de acceptare a procesului sau cele referitoare la previziunile in timpul fabricatiei.

Acesta face o prezentare generala a principiilor si conceptelor de baza si ilustreaza relatia dintre diferite tipuri de fise de control pentru a ajuta la selectarea standardului eel mai potrivit pentru circumstantele date.

Nu specifica metode de control statistic utilizate pentru fise de control. Aceste metode sunt specificate in ISO 7873 si ISO 7966 si in alte standarde Internationale ulterioare.

2 REFERINTE NORMATIVE

Standardele indicate mai jos cuprind prevederi care, ca urmare a referirii din prezentui text, constituie prevederi valabile pentru prezentui Standard International. In momentul publicarii, editiile indicate erau in vigoare. Toate standardele sunt supuse revizuirii si partenerii care au incheiat acorduri pe baza prezentului Standard International sunt invitati sa studieze posibilitatea aplicarii editiilor celor mai recente ale standardelor indicate mai jos. Membrii CEI si ISO detin cataloage ale standardelor Internationale Tn vigoare la un moment dat.

ISO 3534-1:1993, Statistics-Vocabulary and symbols-Part 1: Probability and general statistical terms ISO 3534-2:1993, Statistics-Vocabulary and symbols-Part 2: Statistical quality control ISO 7873:1993, Control charts for arithmetic average with warning limits ISO 7966:1993, Acceptance control charts ISO 8258:1991, Shewhart control charts

3 DEFINITII

Pentru scopurile prezentului Standard International se aplica definitiile prezentate in ISO 3534-1 si ISO 3534-2.

4 GENERALITATI

Fisele de control sunt un instrument fundamental pentru controlul statistic al calitatii. Acestea reprezinta o metoda de comparare a informatiilor din esantioane, reprezentand starea curenta ^procesului, cu limitele stabilite dupa considerarea variabilitatii inerente a procesului. Acestea sunt utilizate in principal ca mijloc de evaluare a unui proces de fabricate sau proces administrativ daca este sau nu in "stare de'control statistic". Desi initial au fost create pentru productia industrials si dezvoltarea aplicatiilor acesteia, metodele fiselor de control sunt acum foaite utilizate atat Tn servicii cat si in sustinerea operatiilor. in esenta, fisele de control sunt un un instrument managerial pentru a determina daca procesul este stabil sau a suferit schimbari si acestea sunt utile atat pentru nivelurile de conducere cat §i pentru operator pentru controlul la locul de munca.

In toate operatiile este prezenta variabilitatea inerenta datorata numeroaselor, dar in general minore, cauze aleatoare astfel meat rezultatele observate intr-un proces stabil nu sunt constante si sunt necesare limite statistice valide pentru a minimaliza deciziile eronate ce conduc la supra sau subcontrol.

Un proces este considerat a fi in "stare de control stat.stic" daca nu intervin modificari sistematice in proces. In esenta, cand un proces este "sub control" este posibil sa se prevada sigur comportarea acelui proces, atata timp cat nu intervin cauze nealeatoare (sau speciale) in sistem. Cand procesul este supus rezultatelor acestor cauze speciale starea la iesire nu poate fi prevazuta fara informatii despre prezenta si efectul acestora. Un proces care nu este In "stare de control statistic" necesita interventii pentru a fi adus in aceasta stare. Pentru anumite fenomene economice sau naturale pot sa nu existe posibilitati cunoscute de a interveni si fisa de control sei^este numai la identificarea lipsei starii de control.

Fi§ele de control furnizeaza o metoda grafica simpla de a evalua daca procesul a atins sau nu "starea de control statistic" sau daca aceasta se mentine. Evaluarea se face prin compararea valorilor sau modetelor uneia sau mai

multor statistic! calculate pe o serie ordonata de esantioane, sau subgrupuri, cu limitele de control. Exista o varietate de fise de control specifice, fiecare conceputa pentru tipurile de decizii ce trebuie luate, natura datelor si tipul statisticii utilizate. Cuvantul "statistic" accentueaza faptul ca masurarile sunt supuse erorilor inerente provenind din masurare si deci reprezinta un esantion cu variabilitate inerentS de esantionare.

Una din calitatile majore ale fisei de control este simplitatea utilizarii si constructiei. Aceasta constituie un indicator al "starii de control statistic" atat pentru operatorul din productie sau service, cat si pentru inginer, administrator si manager. Totusi, fisa de control reprezinta numai o parte a procedurii complete de analiza. Aceasta poate semnala cand o cauza desemnabila a intervenit in proces, dar este necesar un studiu separat pentru a determina natura acestei cauze si actiunile corective necesare.

5 FISE DE CONTROL PRIN MASURARE SI PRIN ATRIBUTE

Fisele de control pot fi utilizate atat pentru date obtjnute "prin masurare" cat si pentru date prin "atribute". Datele obtinute prin masurare reprezinta observatii obtinute prin masurarea si Tnregistrarea marimii numerice a unei caracteristici pentru fiecare unitate din grupul considerat. Aceasta implica o referinta la o scara continue! de un anumit tip. Datele prin atribute reprezinta observatiile obtinute prin notarea prezentei (sau absentei) unei anumite caracteristici sau atribut Tn fiecare unitate din grupul considerat si se numara cate unitati poseda (sau nu) atributul, sau cate astfel de evenimente apar pe unitate, grup, zona sau Tn volumul esantionului-.

In cazul datelor obtinute prin masurare se utilizeaza Tn general doua tipuri de fise de control. Prima se refera la masura localizarii cum ar fi media subgrupului sau esantionului X, sau mediana acestuia. A doua se refera la masura imprastierii observatiilor Tn cadrul esantionului sau subgrupului, cum ar fi "amplitudinea" *(R* sau w) sau abaterea standard a esantionului (s). Ambele tipuri de fise sunt necesare pentru a realiza o abordare eficienta cu ajutorul fiselorde control prin masurare.

Fisa pentru localizare este utilizata pentru a evalua daca exista dovezi ca se semnaleaza prezenta unei schimbari reale Tn nivelul procesului, Tn timp ce fisa pentru Trnprastiere este utilizata pentru a evalua daca exista dovezi ale unei modificari Tn marimea abaterii standard din cadrul unui esantion sau grup. Limitele de control ale fisei pentru localizare sunt Tn functie de abaterea standard proprie esantionului sau subgrupului. Este important sa se verifice daca parametrul variabilitatii inerente ramane sub control.

Pentru cele mai multe fise de control prin masurare, se asuma distributia normala (a se vedea ISO 3534-1). in general se reprezinta mediile a *n* masurari dintr-un subgrup deoarece, cu exceptia situatiilor extraordinare, mediile tind sa urmeze distributia normala chiar atunci cand modelul de distributie al observatiilor individual nu este normal si deoarece influenta variatiilor aleatoare se reduce prin faptul ca se lucreaza cu mediile procesului. Aceasta reducere mareste posibilitatea de a detecta aparitia unui semnal ca a intervenit o cauza desemnabila. in timp ce, din comoditate, se preleveaza frecvent efective de esantion de *n* - 4 sau *n* = 5, o analiza economics poate sugera ca fiind adecvate alte numere. Dezvoltarea acestor diferite aspecte se gaseste Tn staritiardele Internationale specifice diferitelorfise de control.

in cazul fiselor de control pentru date prin atribute, se reprezinta numai o singura fisa. Fisa "p" (proportia unei anumite clasificari specificate), se bazeaza pe distributia binomiala. Abaterea standard pentru aceasta proportie este notata s_a. Deoarece

$$s_p = \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}}$$

si depinde deci numai de *n* si p, nu este necesar sa se traseze o fisa separata pentru s_p. Similar, fisa "c" (numararea evenimentelor unei clasificari date) se bazeaza pe distributia Poisson. Abaterea standard a numararii este notata s_c. Deoarece, $s_c = \sqrt{c}$, nu va fi necesar sa se traseze o fisa separata pentru Tmprastieie.

6 LIMITE DE CONTROL

Limitele de control se utilizeaza drept criterii pentru semnalarea necesitatii de a interveni sau pentru a judeca daca un set de date indica sau nu o "stare de control statistic". Cateodata se utilizeaza un al doilea set de limite numite "limite de atemjonare" §i limitele de control sunt cateodata numite "limite de interventie". Interveniia poate fi sub forma de:

a) investigarea sursei (surselor) unei "cauze desemnabile";

b) realizarea unei ajustSri a procesului; sau

c) oprirea procesului

Regulile care defmesc condipe de depa'sire a criteriilor de atent,ionare si de intervent,ie sunt definite Tn standardele internatJonale specifice pentru fisele de control (a se vedea ISO 7873, ISO 7966 si ISO 8258). Acestea pot fi puncte ce se situeazS in afara limitelor, serii sau ansambluri tipice ale observa^iilor ce se situeaza Tn interiorul limitelor.

7 SUBGRUPURI RATIONALE

Un subgrup rational este un subgrup sau un esantion, ales din motive tehnice, ?n cadrul caruia se poate considera c3 variable se datoreazS numai cauzelor aleatoare nedesemnabile (sau comune) dar Tntre esantioane pot exista variatii datorate cauzelor desemnabile (sau specials) a caYoi prezenja poate fi considerate important^ si posibil de detectat. Intre motivele tehnice se includ probleme de omogenitate, facilitatea esantionSrii si considerafli economice. Una din caracteristicile esenflale ale fisei de control este utilizarea subgrupurilor rationale pentru colectarea datelor. Variabilitatea ma'surata' in cadrul subgrupurilor rezonabil de omogene este utilizata" pentru determinarea limitelor de control, sau pentru verificarea stability pe termen scurt, Tn timp ce stabilitatea pe termen lung este Tn general evaluate Tn functJe de variable dintre subgrupuri. Desi intervalele de timp relativ scurte reprezinta o baza obisnuita pentru un subgrup rational pe considerentul limitarii duratei expunerii, la cauze desemnabile potentate pot fi adecvate §i alte baze cum ar fi o subzonS relativ omogena sau conditji comune (de exemplu munca unui anumit operator). Aceeasi definite a unui subgrup rational trebuie utilizata[1] pentru colectarea datelor si pentru determinarea limitelor de control.

In cele mai multe aplicatii din productie, subgrupul rational reprezinta' datele colectate Tntr-o perioada" scurta de timp Tn condtyi practic identice de material, de seturi de scule, de condfyi de mediu etc. In cazul service-lui si al aplicatiilor de birou, subgrupurile rationale pot fi definite Tn functie de perioadele specifice sau de grupari logice ale sarcinilor sau functiunilor pentru o persoana sau o anumita echipa. Variabilitatea Tntalnita Tn aceste cazuri trebuie sa se datoreze numai cauzelor aleatoare (sau comune). fn cazul intervalelor de timp mai lungi, este de asteptat ca sa intervina cauze desemnabile (sau speciale) cum sunt o schimbare Tn sursa materialului, Tnregistrarea de date diferite, o noua reglare a sculelor, schimbari de mediu sau schimbarea operatorului.

Desi se poate Tntampla ca aceste schimbaYi s5 nu modifice nivelul procesului, aceste cauze reprezinta o variabilitate potentials mai importanta decat cea datorata cauzelor aleatoare. Abaterea standard din cadrul subgrupului (fie c§ este estimate" dintr-un set de subgrupuri, fie cS este cunoscuta din experient,a anterioara) serveste ca masura de baza a "variabilitat,!! aleatoare".

De remarcat ca daca trebuie obtinutS o valoare relevanta subgrupu) rational trebuie supus tuturor surselor uzuale de variatii aleatoare (sau comune). De exemplu, o serie de citiri repetate efectuate pe un esantion de material introdus Tntr-un echipament de Tncercare poate sa nu includa contributia pozitionarii materialului Tn echipament sau Tn obtjnerea esantionului. Daca aceste aspecte sunt inerente mediului obisnuit de Tncercari, citirile repetate ar putea genera o estimare neperformanta, nerealista, a variabilitatii inerente masurarii. Astfel aproape orice masurare reala din proces ar aparea "Tn afara controlului". Totusi ,daca subgrupul este prea mare, astfel meat variatia datoratS cauzelor desemnabile mareste abaterea standard Tn cadrul subgrupului, multe cauze desemnabile pot sa intervina fara a fi detectate.

Asa cum s-a prezentat mai sus, abaterea standard a masurarilor in cadrul fiecarui subgrup constituie masura de baza a variabilitatii inerente pentru fisa de control. Atunci cand aceasta nu este deja cunoscuta, se estimeaza prin regruparea observatiilor colectate dintr-un set mai mare de subgrupuri. Se recomandS sa fie utilizata informatia din eel putin 20 subgrupuri. Este important sa se verifice ca datele colectate pe durata acestei perioade de baza sunt "Tn stare de control statistic" prin reprezentarea amplitudinilor subgrupurilor sau abalerilor standard pe o fisa de control (adica datele sunt Tn stare de control statistic cu respectarea variatiei dintre subgrupuri) si daca acestea nu sunt Tn aceasta stare, sa se Tntreprinda actiuhile corective necesare pentru a obtine date valide.

Limitele de control se bazeaza pe un multiply de a_e, abaterea standard a statisticii reprezentate, care la randul sau deriva din abaterea standard din cadrul subgrupului. Multiplul pentru a_e, media numSrului de observatii individuate (efectivul esantionului), utilizarea regulilorsuplimentare (de exemplu senile), frecventa de esantionare

si aspecte similare sunt prezentate Tn siandardele Internationale specifice de fise de control (a se vedea ISO 7873 si ISO 7966). Daca amplitudinea esantionului este utilizata" ca o ma'sura' a variabilitatii, limitele de control se bazeaza" pe un muitiplu de *R ,* evit^nd estimarea abaterii standard a_e.

8 TIPURI DE FISE DE CONTROL

Exista trei tipuri principale de fise de control (inclusiv fisele cusum):

a) fisa de control Shewhart, cu mai multe variante apropiate (a se vedea ISO 8258);

b) fisa de control pentru acceptare (a se vedea ISO 7966);

c) fisa de control adaptabila.

Fisa de control Shewhart este utilizata *in* principal pentru a evalua "starea de control statistic", desi fisele din aceasta categorie sunt deseori utilizate ca instrument pentru acceptar«a procesului, chiar daca" nu sunt special concepute pentru a fi legate de utilizarea criteriilor sau limitelor de tolerant^ ale procesului.

Fisa de control pentru acceptare este conceputa" special pentru acceptarea procesului.

Fisa de control adaptabila este utilizata pentru a regla procesul prin anticiparea tendintelor si efectuarea de ajustari prin anticipare pe baza previziunilor.

Cateva din aceste fise specifice ale tipurilor generale sunt descrise Tn capitolele 9 pana la 11.

9 FISE DE CONTROL SHEWHART SI FISE CONEXE

9.1 Generalitati

Intrucat scopul limitelor de control este de a oferi o procedure consecventa pentru a lua o decizie asupra "starii de control statistic", Dr. W. A. Shewhart, care apropus utilizarea fiselor de control pentru "controlul economic al calitatii", a ales limite stabilite pe baze empirice, dar utilizand considerafii statistice. Prezumtiile despre colectarea datelor, forma exacta a distributee! datelor si alte consideratii practice cum sunt imposibilitatea sau lipsa justificarii economice pentru cauze desemnabile minore (sau nedescoperite), face nedoritS aplicarea valorilor de probabilitate teoretica rigide. Este necesar sa se defineasca" linia centrala a fisei Tnainte de a se adSuga liniile de control. Dr. Shewhart a recomandat ca limitele sa fie trasate la ± $3a_e$, adica trei abater! standard a statisticii maturate ce a fost reprezentata, pe baza variabilitatii din cadrul subgrupului rational. Astfel, cand se aplica fisele de control pentru medii, limitele sunt, Tn mod obisnuit, trasate la $3a_?$. Daca se presupune ca distrtbutia de baza a mediilor masurarilor observate este normala, aceste limite includ 99,7% din mediile reprezentate atata timp cat procesul este "sub control" la valoarea centrala" prestabilita. Aceasta Tnseamna ca 0,3% din punctele (mediile) reprezentate ale unui proces "sub control" depasesc limitele, semnaland astfel eronat mesajul "iesit de sub control". Acesta este denumit riscul alfa (a = 0,003), adic3 riscul de a face o eroare de tip I conducand la concluzia ca a intervenit o modificare Tn proces, cand de fapt nu a intervenit. fn practica, totusi, daca distribu{iile nu sunt normale sau, daca anumite abater! mici de la nivelul central specificat nu au valori economice Tngrijoratoare, interpretarile probabiliste sunt inexacte si servesc numai ca indicatori ajutStori ai amplitudinii. Pentru fisele "c" si "p", distribufia normala, este utilizata pentru a aproxima distributee binomiala si Poisson. fn general este suficient sa se puna de acord asupra unui criteriu de decizie (limitele $3a_e$) si sa se admita ca din motive pract e exista un rise alfa relativ mic.

Pe de alta parte, se pune problema posibilit3tii de a detecta modificarile unei anurn exemplu, daca se presupune ca observatiile individuate urmaresc o distributie norr observatiilor individuale din proces este *a,* atunci daca media procesului s-a modif'C' referinta, care va fi riscul de a nu detecta aceasta modificare (eroarea de tip II)? Daca patru observatii, riscul de tip II este de 84; 1% si daca sunt reprezentate observatiiie inc 97,5%. Unui din motivele pentru care fisa de control este un instrument practic Tn mulir de sensibilitate a acesteia la schimbarile relativ mici Tn nivelul procesului care pot ij ; Frecvent, supracontrolul contribuie mai mult la lipsa uniformitatii, datorita Tnsumani P nealeatoare Tn variabilitatea procesului, decat modificarile mici de nivel. Informatii supii., sunt prezentate la capitolul 10.

zr\e.* De -andard a soarea de mediile a ;cu! este de • ista lipsa 5 practic. dereglare ~4 subject

Uneori, daca se doreste o sensibilitate mai mare la micile modificciri de nivel, se utilizeaza limitele de atent,ionare, Tn general trasate la ± 2o_e, in completare la limitele de control trasate la ± 3o_e §i se stabilesc adesea reguli de decizie suplimentare pe baza seriilor (a se vedea ISO 7873). Totusi, aceasta mareste riscul alfa de a califica un proces ca fiind "In afara controlului". Alta cale pentru a mari acest tip de sensibilitate este utilizarea fiselor de control care acumuleaza date din mai multe subgrupuri.

Se utilizeaza de asemenea alte diferite criterii de decizie bazate pe aspecte ale teoriei seriilor. in scopul utilizarii fiselor de control, o serie este considerate! o secventa nemtrerupta de aparitii ale aceluiasi atribut sau eveniment Tntr-un sir de observatji, sau un set de valori consecutive crescatoare (serii "ascendente") sau succesiv descrescatoare (serii "descendente"), sau un set consecutiv de puncte deasupra (sau dedesubtul) liniei centrale.

Multe din fisele de control prezentate in aceasta sectiune nu au tost concepute de Dr. Shewhart, dar acestea .sunt incluse pentru c§ sunt Tn principal utilizate pentru a determine dacS un proces este sau nu Tn "stare de control statistic". Relat,ia cu cerin^ele specificate, nu reprezinta Tn general un element Tn selectarea criteriilor de decizie.

Exista doua forme generale ale fiselor de control Shewhart. Prima este o fi§a de control fara valori standard specificate. Aceste fise utilizeaza limite de control bazate pe reprezentarea pe fisa a datelor subgrupului sau esantionului.. Aceasta forma a fisei de control este utilizata pentru a determina daca valorile observate ale unei serii de esantioane variaza Tntre ele printr-o valoare mai mare decat cea care se presupune a se datora numai Tntamplarii. In esent,a, fisele de control bazate Tn Tntregime pe datele din esantioanele ce se evalueaza, sunt utilizate pentru a detecta orice neregularitate Tn cauzele de variatie ale sistemului. AceastS forma" a fisei utilizata Tn special Tn stadiile de cercetare si dezvoltare sau Tn stadiile preliminare de experimentari sau studii de fabricate si service este utila pentru a determina daca un proces nou, produs sau serviciu este reproductibil si daca metodele de Tncercare sunt repetabile.

A doua forma este o fisa de control ale carei limite de control se bazeaza pe valorile standard adoptate aplicabile statisticilor reprezentate pe fisS. Aceasta forma a fisei de control este utilizata pentru a descoperi daca masurarile observate pe un esantion difera de valorile standard adoptate, printr-o valoare mai mare decat se presupune a se datora numai Tntamplarii. Valorile standard se pot baza pe

a) datele anterioare reprezentative (cum sunt cele obtinute din experienta utilizarii fiselor de control fara valori standard prescrise);

b) o valoare economica bazata pe consideratii ale nevoilor de service si costurilor de productie; sau,

c) valorile dorite sau de referint,a definite Tntr-o specificatje.

Trebuie remarcat ca aceasta forma a fisei de control nu evalueaza numai consecventa cauzei de variatie a sistemului, dar de asemenea evalueazS daca aceasta cauza de variable a sistemului este corect localizata in raport cu valorile standard adoptate.

9.2 Lista partiala a fiselor de control Shewhart si fisele conexe (incluzand fisele cusum)

Aceasta lista este Tmpartita Tn dou§ categorii. Prima cuprinde fise care utilizeaza date obtinute numai de la un singur subgrup, Tn timp ce a doua cuprinde fise care cumuleazS date de la mai multe subgrupuri.

9.2.1 Fise care utilizeaza pentru fiecare valoare reprezentata date numai de la un subgrup rational

Aceste fi§e sunt prezentate dupa cum urmeaza:

a) *X* si *R* (fi§e de control pentru medie §i amplitudine) [mediana poate inlocui *X* si s poate Tnlocui *R];*

b) *X* si amplitudinile mobile [fi§e de control de amplitudine mobila pentru observatii individuale. A se vedea 9-2.2 a)];

c) *p* (fisa de control pentru procent sau proportie);

d) *n p* (fisa de control pentru numar de unitati afectate);

e) c (fisa de control prin numaYare);

0 *u* = *c/n* (fisa" de control prin numaYare pe unitate);

g) Q (fisa de control prin metoda de scor al calitatii, un scor fiind un numar ponderat);

h) D (fisa de control prin metoda demeritelor), o versiune a fisei Q in care demeritele sunt utilizate ca si coefficient! de ponderare;

i) Fisa de control multiraspuns:

O fisS de control pentru evaluarea unui proces Tn func^ie de r§spunsurile a doua" sau mai multe caracteristici combinate ca o statistics unica a subgrupului. Atunci c§nd variabilele sau caracteristicile implicate sunt independente una fata de cealalta" (necorelate), se reprezinta de obicei o statistica x^. Cand exista corelat,ia Tntre caracteristici, statistica uzuala este T^2 (a se vedea ISO 3534).

j) Pisa[1] de control de tendinta:

O fisa" de control pentru evaluarea nivelului procesului Tn functie de abaterea de la media subgrupului Tn raport cu o tendinta presupusS a nivelului procesului. Tending poate fi determinate! empiric sau prin metoda regresiei.

9.2.2 Fise **care utilizeaza date cumulate de la mai mult de un subgrup pentru fiecare** valoare **reprezentata**

Aceste fise sunt prezentate dupa cum urmeaza.

a) Fise de control pentru medie mobilS si amplitudine mobila:

Media neponderata a ultimelor *n* observatii in care observatia curenta a fost inlocuita cu prima din *n* observatii precedente. Acest tip de fisa este utilizat pentru a ob^ine avantaje ale mediei de a micsora variabilitatea aleatoare, Tn special cand este disponibilS numai o observatie pe subgrup, dar are dezavantajul unui rest neponderat rezultat din totalul ultimelor *n* observatii. In unele situa^ii, observatiile individuale (n = 1) sunt reprezentate pe o fisa Xsi amplitudinea mobila (de obicei n = 2) pe o fisa de amplitudine. Aceste fise pierd avantajele mediei Tn functie de micsorarea variabilita^ii aleatoare si asumarea distributiei normale, dar asigura asistenta vizuala Tn evaluarea datelor.

b) Fise de control pentru medie mobila ponderata exponential (EWMA)[N1)] sau fise ponderate geometric sau egalizate exponential:

Se calculeaza media pentru observatiile individuale sau mediile subgrupului de la datele curente si initiate dar acestea luate la intervale apropiate de timp dau ponderi diminuate progresiv. Din cauza restului
f important rezultat aceastS fisa este de obicei mai sensibila la schimbari minore ale nivelului decat fisele uzuale de control Shewhart 30_e. Fisa EWMA asigura o estimare rapida a mediei procesului care este o valoare particulara atunci cand obiectivul este de a decide cand sa se ajusteze un proces si prin ce valoare.

c) Fise pentru suma cumulata:

Se traseaza sumele cumulate ale abaterilor observatiilor individuale sau ale medMinr s'!bgn'i!)"ji de !a o valoare de referinta. Se identified tendinta din fi§a printr-un sablon de decizie
actionare este UR sablon V (trunchiat). Aceasta fisa, din cauza restului consis" ooicei
mai sensibila la modificarile mici ale nivelului decat obisnuitele fi§e de contros
Reprezentarea vizuala, atunci cand se utilizeaza §ablonul V, este deseori utila psntfi; ; rea in timp a
inceperii unei modificari a nivelului.

NOTA NATIONALA N1)-EWMA reprezinta abrevierea expresiei Tn limba engleza "exponentilly weighted moving average"

10 FISE DE CONTROL PENTRU ACCEPTARE

10.1 Generalitati

Fisele de control pentru acceptare reprezinta o metoda grafica cu dublul scop de evaluare a unui proces Tn functie de:

a) daca acesta este sau nu Tntr-o "stare de control statistic" tinand seama de variatia Tn interiorul esantionului sau al subgrupei; si

b) daca se poate sau nu presupune ca satisface cerintele produsului sau serviciului pentru caracteristica (caracteristici) masurata (e).

Diferenta dintre fisele de control pentru acceptare, Tn contrast cu fisele de control obisnuite, este ca de obicei nu este necesar ca procesul sa ramana sub control relativ la un singur nivel standard al procesului, c3 atata timp cat variabilitatea Tn interiorul subgrupului ramane sub control, aceasta ppate fi la orice nivel sau niveluri Tn interiorul zonei de niveluri de proces stabilite prin aprecieri empirice. Se presupune ca anumite cauze desemnabile creaza modificari Tn nivelul procesului care sunt destul de mici Tn raport cu cerintele produsului sau serviciului, desfasurarea unui control prea sever putand fi neeconomica; adica, ajustand prea fin centrarea unui proces costul este excesiv pentru valoarea obtinuta si de asemenea poate introduce cu siguranta o variatie mai mare. Pe de alta parte, unele modificari ale nivelului procesului sunt destul de semnificative, suficient ca sa merite detectarea acestora din timp si riscul de a nu fi detectate este important de luat Tn considerare. Un punct forte al fiselor de control pentru acceptare este evitarea "supracontrolului" ceea ce face inutila corectarea procesului. Astfel de supracorectii conduc tie obicei la un proces mai putin stabil din cauza ajustarilor frecvente incorecte ale procesului si conduc la viitoare corectii. Pentru niveluri de proces aflate fn interiorul "zonei de acceptare a proceselor", rezultatul corectiiior poate, introduce mai degraba decat sa reduca, variabilitatea.

Trasatura care face distinctia Tntre fisele de control pentru acceptare si fisele de control Shewhart si cele conexe este considerarea cerintelor, ceea ce nu reprezinta un element al unei "stari de control statistic".

Inspectorul sau expertul de calitate defineste zona de acceptare a proceselor delimitata prin niveluri de proces acceptabile si de niveluri de proces respinse. Apoi acesta determina efectivul esantionului cerut pentru a satisface riscul alfa al proceselor respinse care trebuie acceptate si de asemenea determina riscul beta al proceselor acceptate care trebuie respinse. Cu aceste criterii acesta calculeaza si traseaza pe fisa limitele de control speciale pentru a fi criteriu de decizie al operatorului. Fisa de control pentru variabilitatea Tn interiorul subgrupului este necesara pentru verificarea "starii de control statistic". Flexibilitatea Tn construirea fisei de control este considerabila, incluzand daca este nevoie utilizarea limitelor asimetrice.

10.2 Fise de control modificate sau fise de control cu limite modificate

Cazul special al unei fise de control pentru acceptare arata plasarea limitelor de control pentru specificatiile de toleranta prin stabilirea "limiteior naturale ale procesului", definite ca limite 3 pentru unitati individual 3a, ca limitele de toleranta. Limitele de control sunt apoi stabilite la

(3-3/Vn)o

cuprinse Tn interiorul limitelor de toleranta pentru a crea limitele de control modificate. Acest lucru este justificat dar metoda nu defineste riscul-beta pentru niveluri de proces neacceptate specificate, nici nu furnizeaza reguli pentru determinarea efectivului esantionului. Limitele de control sunt uneori stabilite la

(3-27 Vn)a

Tn unele aplicatii pentru a asigura limite mai stabile.

Pentru mai multe detalii, a se vedea ISO 7966.

10.3 Liste partiale ale fiselor de control pentru acceptare

10.3.1 Fise de control pentru acceptare

Fisele de control pentru acceptare definesc nivelul de acceptare al procesului Tmpreuna cu riscul **alfa** de respingere a unui proces bun si nivelul de respingere al procesului Tmpreuna cu riscul beta de acceptare a unei modificari a procesului care produce prea multe unitati neconforme, sau este mai centrat decat necesaru! impus.

Aceste fise sunt:

a) X si *R* (fise de control pentru acceptare prin medie si amplitudine);

b) p (fisa de control pentru acceptare prin proportie sau procent);

c) *c* (fisa de control pentru acceptare prin numarare)

10.3.2 Fife de control modificate

Fisele de control modificate definesc limitele de control bazate pe relat,ia dintre nivelul procesului Tmpreuna cu riscul alfa pentru specificarea limitelorde toleranta.

11 Fise de control adaptabile

Fi§ele de control adaptabile se utilizeaza pentru situatji Tn care se pot face ajustari de proces si Tn care necesitatea pentru conformitatea stricta cu nivelul standard de referinta este primordiala. Aceasta implica utilizarea modelelor previzionale de diferite grade de complexitate pentru a permite anticiparea cand procesul poate fi lasat sa continue asa cum opereaza si cand trebuie luate masuri corective prompte pentru a preveni Indepartarea procesului de la nivelul standard de referinta. Deoarece elementele modelului previzional depind mult de procesul specific, fisele de control adaptabile sunt Tn general rezervate pentru aplicatia (aplicatii) particulara (particulare). Aceste fise, Tn contrast cu cele doua tipuri precedente, utilizeaza estimarea previzionala a nivelurilor procesului bazata pe presupunerea ca procesul Tsi continua desfasurarea si solicita schimbari de proces Tn avans pentru a evita aparitia oricarei abater! previzibile de la obiectivul procesului. Atunci cand modelul previzional este bun, aproximarea poate fi foarte eficace Tn vederea reducerii variabilitatii. Daca modelul previzional este mai putin bun consecinta probabila este cresterea variabilitatii.

12 RISCURI ASOCIATE CU DECIZIILE PE BAZA FISELOR DE CONTROL-CRITERII DE EFICACITATE

Fisele de control sunt destinate pentru a semnala neregularitati cum ar fi modificari ale nivelului procesului. Orice procedure statistica de luare a deciziei cuprinde doua tipuri de erori inerente. La aplicarea fiselor de control acestea sunt:

a) Erori de (tipul I) care conduc la concluzia ca a aparut o modificare cand de fapt nu exista nici una. Aceste erori conduc la cheltuieli raportate la supracontrol (ajustari nejustificate) sau investigate inutile de probleme inexistente.

b) Erori de (tipul II) Tn care nu este detectata o modificare de nivel. Aceste erori contii rderi datorate cheltuielilor asociate cu un proces nesatisfacator (cheltuieli rezultate dintr-o cantitate substantiala de unitati de produs sau de servicii nesatisfacatoare), care nu a fost oprit la timp oportunitaii pentru identificarea cauzelor variatiei procesului.

Pentru o fisa de control configurata, incluzand efectivul esantionului si limitele utiii/ caracteristicii operative arata probabilitatea de recunoastere *a* unei modificari a nivelului de prcx.i ..miit timp ca o functie a nivelului de proces. Aceasta curba operativa OC aproximata este utila num ;eie de control Shewhart si fisele de control pentru acceptare care trateaza fiecare decizie pe baza ante, in cazui fiselor de control pentru medie mobila ponderata exponential si al celor pentru suma c e esie inclusa informatia observatiilor anterioare, curba OC aproximata nu este practica si de obicei es' ...ivenabil de a opera cu media perioadei operationale (ARL) Tnainte sa apara un semnal.

In acest context perioada operat,ional§ este definite" ca numarul de subgrupuri examinate din momentul c§nd o schimbare de proces apare pan§ Tn momentul Ccind fisele de control semnaleaza ca schimbarea a apa. ut. In figura 1, de exemplu o schimbare a mediei procesului apare Tntre punctele 10 si 11, dar nu a fost semnalizata mainte ca punctul 20 s5 fie reprezentat astfel meat perioada operational^ este de 10 subgrupuri. Tn alte cazuri, atunci cand apare o schimbare, de aceeasi marime a mediei procesului perioada operatJonala ar putea fi de 5 sau 20 subgrupuri, sau un alt numSr, depinzSnd de sansa de aparitie Tntampla'toare a variapor proprietatilor observate. Astfel pentru o anumita" mSrime a schimba'rii exista o multitudine de perioade operational posibile. In scopul trasarii fiselor de control s-a convenit s3 se utilizeze media acestei distribute, ARL. ARL poate fi utilizata pentru a oferi o indicatie a perioadei de timp Tn care o fisS de control poate permite ca un proces s5 opereze In afara controlului sau Tn afara obiectivului, dar trebuie amintit ca uneori perioada operatlonala realS va fi mai lunga sau mai scurta" decat ARL.

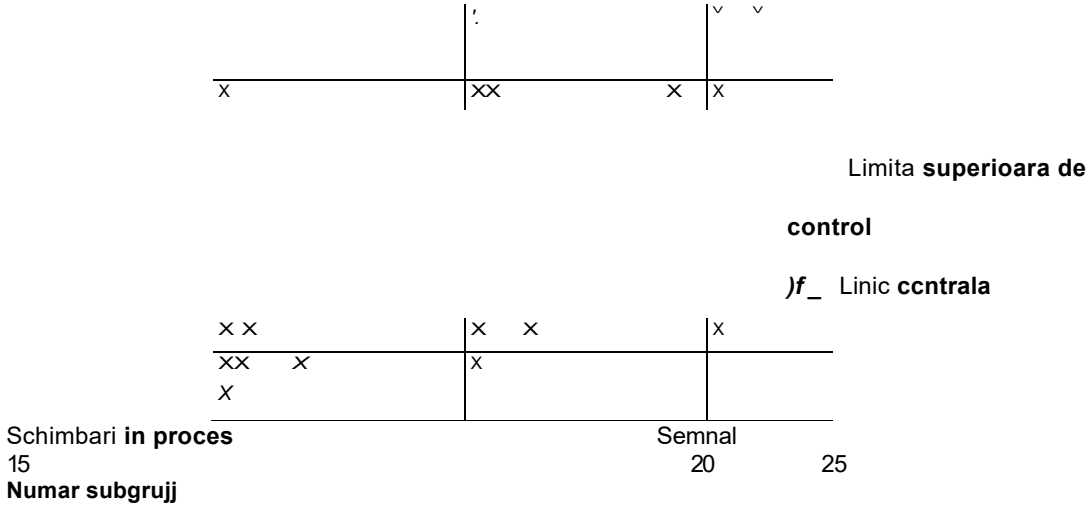


Figura 1-Exemplu de perioadS operat,iona!3 de 10 subgrupuri Tntre o schimbare Tn proces si semnalul fi§ei de control

O ARL de duratci este de dorit pentru un proces stabilit la nivelul specificat (asa meat s§ mic§oreze solicitarea inutilS pentru investigate sau act$iuni corective) §i o ARL de duratS scurta[1] este doriti pentru un proces modificat la un nivel nedorit (asa Tncat actiunea corectivS sa fie solicitata prompt). Curbele ARL pot fi utilizate pentru oricare din fisele de control pentru a descrie rapiditatea de detectare a modifica'rilor de nivel a diferitelor sisteme de fi§e de control.

13 CONSIDERATII ECONOMICE

Determinarea frecventei de prelevare a esantioanelor este un element important Tn evaiu'area impactului economic al riscului alfa si riscului beta. Acest element este mai important Tn scopul acceptarii procesului dec3t Tn scopul determinarii "starii de control statistic" al acestuia. Munca rezultatJS din aceste studii economice conduce la diferite recomandari specifice pentru alegerea "fi§ei de control economic".
Recomandari specifice cu privire la efectivul esantionului si frecventa de e§antionare sunt cuprinse Tn diverse standarde de fise de control. O indicatie generala este ca Tn fazele initiale de operare a acestorfise de control este deseori de dorit sa se ajunga rapid la concluzii prin extragerea esantioanelor mai frecvent O data procesul stabilizat §i evolutia fiind Tnteleasa[1], frecventa esantionarii poate fi redusa. Pentru detectarea modificarilor de nivel pot fi utilizate esantioane mai mari dar pentru detectarea mai rapida a schimbarilor mai importante pot fi utile esantioane mai mici prelevate mai frecvent.

ICS 03.120.30

IRS
STANDARD ROMAN

SR ISO 8258 + C1
Noiembrie 1999
Indice de clasificare U 32

FI§E DE CONTROL SHEWHART

IDT ISO 8258: 1991 + C1: 1998

Shewhart control charts Cartes de

controle de Shewhart

APROBARE

Aprobat de Directorul General al IRS la 30 octombrie 1998 Tnlocuieste STAS R 1849-72, STAS R 5880-72 si STAS R 5997-72

CORESPONDENTA

Prezentul standard este identic cu Standardul International ISO 8258:1991, Fi§e de control Shewhart, si cu modificarea Cor.1:1993 care a fost incorporate!

This standard is identical with the International Standard ISO 8258:1991, Shewhart Control Charts, and with the incorporation of its Tehnical Corrigendum 1, Cor. 1:1993

La presente norme este identique a la Norme internationale ISO 8258:1991, Cartes de controle de Shewhart et avec le Rectificatif Technique 1, Cor.1:1993 incorpore.

DESCRIPTORI TIT

Analiza statistica, controlul calitatii, controlul proceselor, grafic, specificatie

INSTITUTUL ROMAN DE STANDARDIZARE (IRS), str. J.L.Calderon 13, 70243 Bucuresti,
TP (01) 6111440, TF (01) 3120823, TX 11312 IRS R

©IRS Reproducerea **sau utilizarea** integrals sau partiaia **a prezentului standard** Tn orice publicadi §i **prin orice procedeu (electronic,** mecanic, **fotocopiere,** microfilmare **etc.) este interzisS dacfl nu exists** acordul scris **al IRS.**

PREAMBUL NATIONAL

Prezentul standard este identic cu ISO 8258:1991, Fise de control Shewhart, reprezentand traducerea in limba romana a versiunii engleze. Versiunea romana a fost recunoscuta de ISO ca avand aceea§i valabilitate cu versiunea oficiala,

Prezentul standard Tnlocuieste STAS R 1849-72 Controlul statistic al calitztyi. Controlul Tn timpul procesului de fabricatie; Principii de baza, STAS R 5880-72 Controlul statistic al calitdjii. Controlul in timpul procesului de fabricate prin mSsurare si STAS R 5997-72 Controlul statistic al calitafli. Cohtrolului Tn timpul procesului de fabricatie,prin atribute si prin numar de defecte.

Fata de standardele enuntate mai sus, prezentui standard este altfel structural, are alt mod de abordare a problemei, §i prezinta" o terminologie actualizata.

In prezentui standard s-au introdus urmatoarele note nat,ionale si corecturi:

La capitolul 7 s-a introdus Nota nationals N1 privind aplicarea testelor de model pentru fisele pentru mediana si pentru abaterea standard.

La capitolul 8 s-a introdus prin Nota nationals N2 definitia indicelui de performanta a procesului C_{pk}.

La capitolul 9, tabelul 5 s-a introdus corectura din Technical Corrigendum 1; la coloana a treia, prima linie, se adauga "3" dupa" semnul" ±" pentru a obfine

$$\bar{p} \pm 3\sqrt{\frac{\bar{p}(1-\bar{p})}{n}}$$

La capitolul 12 s-a introdus prin Nota nationala N3 observajia referitoare la exemplul prezentat; pentru simplificare s-a aplicat numai testul numSrul 1 pentru fisa *R*.

La tabelul 7 s-au corectat valorile mediilor corespunza"toare subgrupului 5 (valoarea 0,2033 a fost mlocuita cu 0,2028) si subgrupului 16 (valoarea 0,2049 a fost tnlocuita' cu 0,2024).

La 12.2 ultimul paragraf s-a corectat valoarea 11,8% cu valoarea 7,2%.

La 13.2, tabelul 11, s-a corectat valoarea limitei de control superioarS LCS corespunzatoare e§antionului 4; valoarea 0,177 s-a mlocuit cu valoarea 0,117.

Se mentioneaza" ca in textul prezentului standard s-a incorporat modificarea cuprinsa Tn Cor.1:1993 publicat la data de 15-04-1993 de Comitetul Tehnic ISO/TC 69, *Aplicafii ale metodelor statistice,* Subcomitetul SC 5, *E§antionarea pentru acceptare.* Modificarea apare la tabelul 5 de la capitolul 9 si este evidentiata prin douS linii paralele verticale in partea stanga a acestuia.

Cuvintele "standard international" din textul prezentului standard trebuie citite "standard roman".

SR

Versiunea romana **FI§E DE**

CONTROL SHEWHART

CUPRINS

pagina

1 Obiect 4
2 Simboluri 4
3 Natura fiselorde control Shewhart 5
4 Tipuri de fise de control 7
4.1 Fise de control la care nu se dau valori standard ..... ." 7
4.2 Fise de control cu valori standard date 7
4.3 Tipuri de fise de control prin masurare si prin atribute 7
5 Fi§e de control prin ma'surare ..... : 8
5.1 Fise pentru medie *(X)* §i pentru amplitudine *(R)* sau pentru abaterea standard (s) 8
5.2 Fi§e de control pentru valori individual (X) 9
5.3 Fise de control pentru mediane (Me) 10
6 Proceduri de control §i de interpretare a fiselorde control prin masurare 11
7 Teste de model pentru cauzele desemnabile ale varia}iei 12
8 Controlul procesului §i capabilitatea procesului 12
9 Fis.e de control prin atribute 14
10 Considerafli preliminare Tnaintea iniflerii unei fi§e de control 16
10.1 Alegerea caracteristicilor de calitate 16
10.2 Analiza procesului de produce 16
10.3 Alegerea subgrupurilor rationale 17
10.4 Frecventa si efectivul esantioanelor 17
10.5 Culegerea datelor preliminare 17
11 Etapele construirii fi§elorde control 18
12 Exemple: Fi§e de control prin masurare 19
12.1 Fisa *X* §i fi§a *R :* valori standard date 19
12.2 Fi§a *X* §i fi§a *R :* f§r3 valori standard date 21
12.3 Fisa de control pentru valori individuate, *X* si amplitudine mobila, R : faYa" valori standard date ... . *i.* 25
12.4 Fisa pentru mediana: f5rS valori standard date 26
13 Exemple: Fise de control prin atribute 28
13.1 Fi§apsi fi§a *np :* fSrS valori standard date 28
13.2 Fisa *p :* fSri valori standard date 31
13.3 Fisa *c :* faYI valori standard date 33
13.4 Fi§a *u :* numSrde neconformita^i pe unitate 34

Anexe

Bibliografie 36

"~-

INTRODUCERE

Conform abord2rii tradifionale a fabricate! realizarea produselor ctepinde **de produces pentru execufia** produsului si **de** controlul calitajii pentru inspectia produsului fin it si indepartarea unita^ilor **care nu** corespund specificafiilor. Aceasta **strategic de detectare** este **adesea** neeconomica si **genereazS risipS deoarece** presupune **o inspects dupJS aparitia erorilor, cand** exists **deja** producfia neconforma. **De fapt, este mult mai eficient s3 se aplice o strategic de prevenire pentru a** evita, in primul rand, **o produce care nu poate fi folosita'. Aceasta se poate realiza prin colectarea infomnapor despre proces si analizarea acestora astfel** meat s3 actioneze **asupra** procesului Tnsusi.

Fisa de control, ca metoda grafica" de aplicare a principiilor statistice avand **scopul de a** controla **procesul de produce, a fost propusS prima data" de Dr. Walter Shewhart in 1924[1]. Fi§a de control identifies dou3 tipuri de** variability. **Primul tip este o** variabilitate **aleatoare datorati unor** "cauze nedesemnabile" **(cunoscute de asemenea sub numele de "cauze comune"). Acestea sunt consecint,a marii varietS^i de cauze existente Tn mod consecvent dar dificil de identificat, fiecare dintre acestea constituind o components foarte mica" a variabilitafli totale, dar neavdnd nici una o** contribute semnificativa. **Totusi, suma aportului** tuturor acestor **cauze aleatoare** neidentificate **este** ma'surabila **si se** apreciazJS ca **este** inerentS **procesului.** Eliminarea **sau corectarea cauzelor nedesemnabile** necesita **o decizie a conducerii pentru alocarea** resurselor in **scopul** ImbunStStirii **procesului si sistemului.**

Al doilea tip de variabilitate reprezinta **o modificare reala a procesului. O asemenea** modificare **poate fi** atribuita **unor cauze identificabile** care nu constituie **o parte** inerenta **a procesului si care teoretic, poate fi** eliminate. **Aceste cauze identificabile se numesc "cauze desemnabile" sau "cauze** speciale" de variable. **Acestea pot fi atribuite neuniformitS^ii materialului, unei scule uzate, operatorilor, procedurilor sau neregularitStii performan^ei de fabricate sau echipamentului de mcercare.**

Fisele de control ajuta la detectarea factorilor nenaturali de variable **a datelor rezultate dintr-un proces** repetitiv si **fumizeazS criterii de detectare a pierderii** st§rii **de control statistic. 'Un proces este sub control statistic** daca variabilitatea acestuia se datoreazS **numai cauzelor aleatoare. O** data **ce se** determine **nivelul de** variatie **acceptabil, toate devierile in raport cu acest nivel se presupun a fi rezultatul cauzelor desemnabile care trebuie identificate si eliminate sau reduse.**

Scopul controlului statistic al procesului este de a stabili si de a men^ine un nivel acceptabil si stabil **astfel** incat sa se asigure conformitatea **produselor si serviciilor cu** conditiile **stabilite. Principalul instrument statistic utilizat** in **acest scop este** fisa **de control, care este o** metoda graficS **de prezentare** si comparare **a** informa^iei **bazata pe o** succesiune **de esantioane reprezentand starea reald a procesului Tn raport cu limitele stabilite dupa estimarea variabilit^ii** inerente **a procesului. Metoda** fisei **de control permite, Tn primul** rand, sa **se estimeze** daca **un proces atinge sau nu, sau se gSseste Tn starea de control statistic pentru un nivel exact specificat, si apoi** sS **se** ob^inS **si sd se menfinS controlul si un nivel ridicat de uniformitate pentru caracteristicile importante ale produsului sau** serviciului pastrand o Tnregistrare continuS a calitStii **produsului Tn timpul procesului de** produce. Utilizarea **unei fise de control** §i **o** analiza **atentci a acesteia conduc la o mai** bun§ intelegere si **la** imbunata^irea **procesului.**

1 OBIECT

Prezentui Standard International este un ghid pentru utilizarea si tntelegerea fisei de control Shewhart corelat cu metodele de control statistic ale unui proces.

Prezentui Standard International se limiteaza la tratarea metodelor de control ale procesului utilized numai sistemul de fise Shewhart. Notiunile supllmentare care Tn mod logic sunt legate de metoda Shewhart cum sunt utilizarea limitelor de avertizare, analiza modelelor de tendinta §i capabilitatea procesului, sunt prezentate Tn mod succint. Exists, Tn acest sens, multe alte tipuri de proceduri de fise de control, a caYor descriere general este prezentata" Tn ISO 7870.

2 SIMBOLURI

n Efectivul unui subgrup; numSrul de observatii din subgrup

k Numarul subgrupurilor

X Valoarea caracteristicii de calitate mSsurate (Xi , *Xi .* Xs, ..., reprezintS valori individuale). Uneori se utilizeaza simbolul Y Tn locul lui X.

X (X barat) Valoarea medie a unui subgrup:

X *(X* dublu barat) valoarea medie a mediilor subgrupurilor //

Valoarea reala a mediei procesului

Me Valoarea mediana" a unui subgrup. Pentru un set de *n* numere Xi , *X? ,* Xj , ..., X_n ordonate crescStor sau descresca"tor, mediana este numlirul central al sirului daca *n* este impar si media celor dou3 numere centrale daca *n* este par.

Me Valoarea medie a medianelor subgrupurilor

R Amplitudinea subgrupurilor; diferenta dintre cea mai mare si cea mai mica valoare observata Tntr-un subgrup.

NOTA 1 - In cazul fi§elor pentru valori individuale, *R* reprezintS amplitudinea mobiia care este valoarea absolute a diferen^ei Intre douS valori succesive IXi -^Xzl , IXj-Xsl etc.

R Valoarea medie a valorilor *R* pentru toate subgrupurile s

Abaterea standard a esantionului:

$$S = '$$

$$n - 1$$

s Valoarea medie a abaterilor standard ale esantionului format din subgrupuri

CT Valoarea reala a abatehi standard a procesului Tn cadrul unui subgrup

6 Valoarea estimata a abaterii standard a procesului Tn cadrul unui subgrup

p Proportia sau fracfiunea de unitafi neconforme din cadrul unui subgrup:

p = num§rul de unitSti neconforme dintr-un subgrup / efectivul subgrupului

p Valoarea **medie a** propose! sau **fracfiunii de** unita^i neconforme:

p = numaYul de unitety neconforme din toate subgrupurile / numarul total de unita{i inspectate

np NumSrul de imita^i neconforme dintr-un subgrup

c Numarul de neconformita't,! dintr-un subgrup

c Valoarea medie a valorilor c pentru toate subgrupurile

u Numarul de neconformitS^i pe o unitate dintr-un subgrup

u Valoarea medie a valorilor u :
u = numarul de neconformitaji din toate unita^ile / numaYul total de uitafl verificate

3 NATURA FISELOR DE CONTROL SHEWHART

Stabilirea unei fise de control Shewhart necesita date provenite prin e§antionare din proces la intervale aproximativ regulate. Intervalele se pot stabili in func^ie de timp (de exemplu ora) sau Tn func^ie de cantitate (de exemplu fiecare lot). In general, fiecare subgrup este constituit din acelasj fel de produse sau chiar servicii avand aceleasi unitS^i m§surabile §i acelasi efectiv al subgrupului. Pentru fiecare subgrup se consider^ una sau mai multe caracterislici ale subgrupului, calculandu-se pentru acesta media subgrupului, *X ,* si amplitudinea subgrupului *R,* sau abaterea standard, s. Fi§a de control Shewhart este un grafic de valori ale caracteristicilor date ale subgrupului Tn funcfle de numarul subgrupului. Aceasta are o linie centralS (LC) situatS la o valoare de referin^ a caracteristicii reprezentate. Intr-o evaluare, pentru a sti daci exists sau nu o stare de control statistic, valoarea de referinja' este ?n general media datelor considerate. In controlul procesului, valoarea de referin^ este Tn general valoarea pe termen lung a caracteristicii stabilite Tn specificatia de produs sau o valoare nominala a caracteristicii reprezentate pe baza experience! anterioare privind procesul, sau din valorile stabilite ale produsului sau ale serviciului Tn cauza. Fisa de control are doua limite de control determinate statistic, de o parte si de alta a liniei centrale, numite limits de control superioara (LCS) §i limita de control inferioarS (LCI) (a se vedea figura 1).

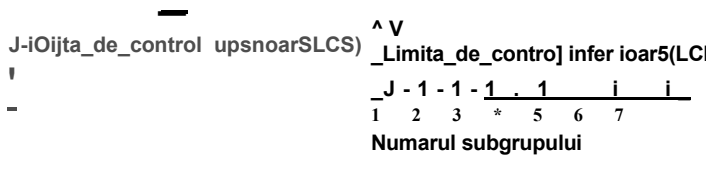


Figura 1 - Schema unei fi§e de control

Limitele de control pe fisele Shewhart se situeazS la o distanta de 3a de o parte si de alta a liniei centrale, unde a este abaterea standard a populate! Tn cadrul unui subgrup de valori a statisticii studiate. Variabilitatea din cadrul unui subgrup se utilizeaza ca mSsura a variabilitS^ii aleatoare. Abaterile standard ale esantionului sau coeficientii respectivi ai amplitudinilor e?antioanelor se calculeazS pentru ob^inerea unei estima'ri pentru a. Aceasta mSsurS pentru o nu ^ine seama de variatja de la un subgrup la altul, ci numai de componentele aceluia?i subgrup. Limitele 3a indica faptul cS aproximativ 99,7% din valorile subgrupului sunt cuprinse Tn interiorul limitelor de control, cu conditia ca procesul sa fie sub control statistic.Aceasta Tnseamna si faptul ca exista un rise de aproximativ 0,3% , sau Tn medie trei cazuri la mie, ca un punct reprezentat sS se gSseasca Tn afara limitelor de control, fie superioara', fie inferioarS, cSnd procesul este sub control. Cuv§ntul "aproximativ" se utilizeaza datorita faptului ca abaterile de la ipotezele presupuse, cum este forma de repartitje a datelor, afecteaza valorile probabilitatilor.

Trebuie mentions! faptul ca unii practicieni prefera sa utilizeze factorul 3,09 Tn loc de 3 pentru obfinerea unei valori a probability! nominate de 0,2% , sau o medie de o decizie gresita" la o mie, dar Shewhart a ales 3 pentru a nu fi nevoit s5 considers probabilita^ile exacte. La fel, unii practicieni utilizeaza valorile probabilitafilor efective pentru fise bazate pe reparttyii nenormale, cum sunt cele pentru amplitudine si pentru frac^iunea neconformS. Revenind, fisele de control Shewhart utilizeaza" limitele ±3a, Tn locul limitelor probabilistice, cu scopul de a sublinia o interpretare empirics.

Probabilitatea ca depasirea acestor limite sa fie intr-adevar un eveniment aleatoriu decat un semnal real se considera atat de mica meat, dacS un punct se situeaza Tn afara limitelor, trebuie Tntreprinsa o acjiune. Deoarece este necesara o act,iune corectiva la aparijia unui asemenea punct, limitele de control 3a sunt uneori numite "limite de acjionare".

De muite ori este la fel de avantajos sa se marcheze de asemenea pe fisa limitele 2o. fn acest caz, orice valoare a esantionului situate! dincolo de limitele 2a pot servi ca alarma pentru o situate iminenta' de pierdere a controlului. De aceea, limitele de control 2a sunt uneori numite "limite de avertizare".

La utilizarea fiselor de control sunt posibile doua tipuri de erori.

Prima este eroarea de tipul 1, care intervine atunci ca"nd procesul urmarit ram§ne sub control, dar un punct cade in mod aleator Tn afara limitelor de control. Ca rezultat, apare concluzia incorectS cU procesul nu este sub control ceea ce genereaza costuri pentru gSsirea cauzei unei probleme inexistente.

A doua eroare este de tipul 2. Aceasta apare atunci cdnd procesul nu este sub control, dar cand punctul general cade Tn mod aleator Tn interiorul limitelor de control, fn acest caz este incorecta concluzia ca" procesul este Tn stare de control statistic, ceea ce atrage cheltuieli suplimentare asociate cu esecul detectSrii cresterii numarului de neconformita'ti produse. Riscul erorii de tip 2 este o funcjie dependents de trei factor!: ISrgimea limitelor de control, gradul Tn care procesul iese de sub control si efectivul esantionului. Natura acestor factor! este astfel meat permite numai o apreciere general! a marimii riscului erorii de tip 2.'

Sistemul Shewhart nu ia Tn considerare decat eroarea de tip 1 si mSrimea acestei erori este de 0,3% cu limite 3a. Deoarece, Tn general, este imposibilS o estimare a costurilor generate de eroarea de tip 2 Tntr-o situate data si pentru ca" este comod s5 se aleagS Tn mod arbitrar un efectiv mic al subgrupurilor, cum ar fi 4 sau 5, utilizarea limitelor 3a si concentrarea atenfiei asupra controlului si TmbunSt^irii performan^elor procesului insusi este corespunza"toare si admisibilS.

Daca un proces este sub control statistic, fisa de control furnizeaza o metoda de testare continue a ipotezei statistice nule ca procesul nu a suferit modificSri si ramane Tn stare de control statistic. DatoritS faptului ca abatehle specifice ale procesului fa|a de valoarea urmarita, care poate fi luata" in considerare, nu sunt Tn general cunoscute dinainte si Tn plus cu riscul erorii de tip 2 si al efectivului esantionului care nu este calculat pentru a satisface nivelurile de rise asumat, fisa de control Shewhart nu trebuie considerate ca un test de ipoteza (a se vedea ISO 7966 si ISO 7870). Shewhart subliniazS utilizarea empiric^ a fisei de control pentru• recunoasterea abaterilor unui proces aflat sub control si reducerea interpretSrilor de tip probabilistic. Unii utilizatori examineazd curbele caracteristicii operative ca mijloc de interpretare a unui test de ipotezd.

Daca o valoare reprezentata cade Tn afara uneia din limitele de control sau o serie de valori evidentiaza modele nenaturale cum sunt cele prezentate la capitolul 7, starea de control statistic nu poate fi acceptatS Tn continuare. In acest caz se efectueaza o cercetare pentru a localiza cauza desemnabila si procesul poate fi oprit sau corectat. O data identificatS si eliminata cauza desemnabila', procesul se poate relua. Asa cum s-a aratat pentru eroarea de tip 1, Tn cazuri rare, nu se poate gasi nici o cauza" desemnabila si trebuie sa se ajunga la concluzia ca punctul Tn afara limitelor reprezinta un eveniment foarte rar, o cauzS aleatoare care a condus la o valoare Tn afara limitelor de control, cu toate ca procesul este sub control.

Daca fisele de control se utilizeazS pentru prima data Tntr-un proces, se ajunge Tn mod frecvent la situatja ca procesul s5 nu fie sub control. Limitele de control calculate din date provenite de la un proces care nu este sub control conduc la concluzii eronate caci acestea sunt foarte largi. In consecinja, este Tntotdeauna necesar sa se aduca procesul sub control Tnainte de stabilirea parametrilor permanent ai fisei de control. Procedurile pentru stabilirea fiselor de control pentru un proces sunt prezentate Tn capitolele urma'toare.

4 TIPURI DE FI§E DE CONTROL

In esenja" exists doua tipuri de fise de control Shewhart: fise de control prin mSsurare si fise de control prin atribute. Pentru fiecare fisa de control sujit prezentate dou5 cazuri distincte:

a) cand se dau valori valori standard, si

b) cand se dau valori standard.

Valorile standard constituie condijii stabilite sau valori urmarite.

4.1 Fi§e de control la care nu se dau valori standard

Se urmareste determinarea faptului daca valorile observate pentru caracteristivcile studiate, cum sunt *X, R* sau alte statistici, variaza" unele Tn raport cu altele Tntr-o ma'sura' mai mare decdt cea atribuitS inta'mpla'rii. Fisele de control, bazate Tn Tntregime pe date provenind din esantionare, se folosesc pentru cercetarea acelor variafli care pot fi atribuite unor alte cauze, decat cele aleatorii.

4.2 Fise de control cu valori standard date

Tn acest caz, se pune problema de a identifica daca" valorile observate pentru X, etc., pentru diverse subgrupuri de *n* observatii fiecare, difera de valorile standard corespunzatoare Xo (sau /$), etc. Tntr-o ma'sura mai mare decat cea susceptibila" de a se datora numai cauzelor aleatoare. Diferenta fntre fi§ele de control cu valori standard date si cele la care nu se dau valorile standard consta Tn necesitatea suplimentara de a localiza centrul si variatia procesului. Valorile precizate se pot baza pe experienta obtinuta utilizand fise de control fara nici o informatie prealabila sau valori standard date. In aceeasi ma'sura acestea se pot baza pe valori economic stabilite Tn funcjii de consideratii asupra necesitatilor serviciilor si costurilor de productie, sau sunt valori nominate stabilite de la specificatiile produsului.

Oe preferin^a, valorile precizate se determina pomind de la cercetarea datelor preliminare care se presupune ca sunt reprezentative pentru toate datele viitoare. Valorile standard trebuie sa fie compatibile cu variabilitatea inerenta a procesului, pentru ca fisele de control s3 funcfloneze eficient. Fisele de control bazate pe astfel de valori standard se utilizeazd in special Tn timpul fabricate! pentru a controla procesele si pentru a ment,ine uniformitatea product,iei la nivelul dorit.

4.3 Tipuri de fise de control prin masurare si prin atribute

Se considera urmatoarele fise de control:

a) Fise de control prin ma'surare:

   1) fisS pentru medie (X) si fi§3 pentru amplitudine (/?) sau pentru abatere standard *(s*);

   2) fisa pentru valori individuate (X) si pentru amplitudine mobila *(R*);

   3) fi§5 pentru mediana (Me) si pentru amplitudine *(R).*

b) Fi§e de control prin atribute:

   1) fisa pentru fracjiunea de neconformitEiJi (*p*) sau fisa pentru numarul de unita"ti neconforme (np);

   2) fisa pentru numJJrul de neconformitati (c) sau fisS pentru neconformitati pe unitatea de produs (u).

5 FI§E DE CONTROL PRIN MASURARE

Datele prin mSsurare **sunt** observajii ob^inute **prin** masurarea si **Tnregistrarea ordinului** de **mSrime a unei caracteristici pentru** fiecare **unitate din** subgrupul studiat. **Exemple de** mSsurSri **sunt** lungimea in metri, **rezisten^a in ohmi, zgomotul In decibel! etc. Fisele prin mSsurare - §i In special sub forma lor cea mai** uzuala, **fiseleX si *R*** - reprezinta **utilizarea** clasicS a controlului **cu ajutorul fisei pentru controlul procesului.**

Fisele de control prin mSsurare se utilizeazS Tn special pentru cateva **motive:**

a) **Majoritatea proceselor** si **rezultatele lor au caracteristici** masurabile, **dec! sfera de** aplicabilitate **este largS.**

b) O valoare masurata **confine mai** multa informatie decat o simple" **constatare da - nu.**

c) **Performance unui** proces **se poate analiza** fSra a o raporta **la specificat,ii.** Fisele trateaza **procesul Tn sine si dau o imagine** independents **a ceea ce poate** si **realizeze procesul. Prin** urmare **procesul poate sS nu fie comparat cu** specificatia.

d) Desi **obfinerea unui** esantion **de date** mSsurate **este Tn general mai** costisitoare **decSt** otyinerea **unui** esantion **de date trece/ nu trece, efectivele subgrupurilor pentru** mSsurare **sunt aproape Tntotdeauna mai** mici **decSt cele pentru** atribute si **sunt dec! mai eficiente. Aceasta permite Tn** anumite cazuri **reducerea costului total al inspect,iei si reducerea intervalelor de timp Tntre** execujia **pieselor si acfiunea corectivS.**

Se accept! ipoteza ca variabifitatea Tn cadrul unui esantion are o distributee normals **(GaussianS) pentru toate aplicape fiselor de control prin** mSsurare **considerate Tn prezentul Standard International si toate abaterile de la** aceastS ipotezS se repercuteazS **asupra** eficacitS^ii fiselor. Factorii **pentru** calculul limitelor **de control** derivS **din utilizarea ipotezei de normalitate. Deoarece multe limite de control se** utilizeazS drept **ghid empiric pentru stabilirea unor decizii, abaterile rezonabil de mici de la normalitate** nu trebuie *s£* **fie luate Tn** considerare. **Oricum,** pe **baza** teoremei **limitei centrale, mediile tind s5 aibd o distribute normals, chiar** dacS oibservatiile **individuate nu** urmeaza **o distribute normalS; acest lucru permite ca Tn mod rezonabil sa se admits normalitatea pentru fiseleX, chiar si pentru efectivele de esantion atdt de mici ca 4 sau 5, pentru evaluarea** starii **de control.** DacS **se utilizeazS** observable **individuate pentru a studia capabilitatea, forma reala a distribute! este important^. Se** recomandS verificarea **periodic^ a** continuitajii validitS^ii acestor **ipoteze, in special pentru a se asigura** ca **se** utilizeaza **numai datele unei populafii unice. Se** observS cS distributiile **amplitudinilor si ale** abateriior **standard nu sunt** normale, **desi se** presupune **o normalitate aproximativa Tn estimarea constantelor pentru calculul limitelor de control, ceea ce este** satisfacStor **pentru o procedure de decizie empirica.**

5.1 Fi§e **pentru** medie (x) §i **pentru amplitudine** *(R)* **sau pentru abaterea standard (s)**

Fisele prin masurare pot descrie procesul atat din punctul de vedere al TmprSstierii (variabilitatea de la esantion la esantion) cat si din eel al localizSrii (media procesului). De aceea, fisele de control prin mSsurare sunt aproape* Tntotdeauna pregStite si analizate cate doua - o fisa pentru localizare si alta pentru Tmprastiere.

Perechea frecvent utilizata este cea formats din fiseleX si *R.* Tabelul 1 si tabelul 2 prezintS formulele limitelor de control si respectiv coeficien'ii pentru fisele de control prin mSsurare.

Tabelul 1 - Formulele limitelor de control pentru fise **Shewhart**

Statistica	Fara valori standard date Lima centrala	LCS si LCI	Cu valori standard date Linia centrals	LCS si LCI
X	X	X±/V? sau X + ^R	X_0 sau //	$X_0 \pm Aa_0$
R	*R*	D_3R , D_AR	RO sau dya_0	Dia_0 , $D2CT_0$
s	*s*	635 ,8_4s	*SQ*sau $C40_0$	$8go_0$ sau $8eCT_0$
NOTA -Xo , *RO ,* So , *n* §i OQ sunt valori standard date.				

Tabelul 2 - Coeficienti **pentru** calculul limitelor fiselor **de control**

Obser-va(ia Tn subgrup	Coeficientii pentru limitele de control											Coeficientii pentru linia centrals			
n	A	A,	A,	B,	a	85	B.	D,	D_2	D_3	D,	C4	$1/C_4$	d_2	1/d,
2	2,121	1,880	2,659	0,000	2,605	0.000	2,605	0,000	3,686	0,000	3,267	0,7979	1,2533	1,128	0,8865
3	1.732	1,032	1.954	0,000	2,275	0.000	2,275	0,000	4,358	0,000	2,574	0,8862	1,1284	1.693	0,5907
4	1,500	0,729	1,628	0,000	2,038	0.000	2,088	0,000	4,598	0,000	2,282	0,9213	1,0854	2,059	0,4857
5	1,342	0,577	1,427	0,000	1,964	0.000	1,964	0.000	4,918	0.000	2,114	0,9400	1,0638	2,325	0.4299
6	1,225	0,483	1,287	0,030	1,970	0,029	1,874	0,000	5,078	0,000	2,004	0,9515	1,0510	2,534	0,3946
7	1,134	0,419	1,182	0,118	1,882	0,113	1,806	0.204	5,204	0,076	1.924	0.9594	1,0423	2,704	0.3698
8	1,061	0,373	1,099	0,185	1,815	0,179	1.751	0,388	5,306	0,136	1,864	0,9650	1.0363	2.847	0.3512
9	1,000	0,337	1,032	0.239	1,761	0.232	1.707	0,547	5.393	0,184	1,816	0.9693	1.0317	2,970	0.3367
10	0,949	0.308	0.975	0,284	1,716	0,276	1,669	0,687	5.469	0,223	1,777	0,9727	1,0281	3,078	0,3249
11	0,905	0,285	0,927	0.321	1,679	0,313	1,637	0,811	5.535	0,256	1,744	0,9754	1,0252	3,173	0.3152
12	0.866	0.266	0,886	0,354	1.646	0,346	1,610	0.922	5,594	0,283	1.717	0,9776	1,0229	3,258	0,3069
13	0.832	0,249	0,850	0,382	1,618	0,374	1,585	1,025	5.647	0,307	1.693	0.9794	1,0210	3,335	0.2998
14	0,802	0,235	0,817	0,406	1,594	0,399	1,563	1,118	5.696	0,328	1,672	0,9810	1,0194	3,407	0.2935
15	0,775	0,223	0,789	0,428	1,572	0,421	1.544	1,203	5,741	0,347	1,653	0.9823	1,0180	3,472	0,2880
16	0,750	0.212	0,763	0,448	1.552	0,440	1.526	1,282	5,782	0,363	1.637	0.9835	1.0168	3.532	0.2831
17	0,728	0,203	0,739	0,466	1,534	0.458	1,511	1.356	5,820	0,378	1,622	0,9845	1,0157	3,588	0,2787
18	0.707	0,194	0,718	0,482	1.518	0.475	1,496	1.424	5,856	0,391	1,608	0.9854	1,0148	3,640	0,2747
19	0,688	0,187	0,698	0,497	1,503	0,490	1,483	1,487	5,891	0,403	1,597	0,9862	1,0140	3,689	0,2711
20	0,671	0,180	0.680	0,510	1,490	0,504	1,470	1,549	5,921	0,415	1,585	0,9869	1,0133	3,735	0,2677
21	0,655	0,173	0.663	0,523	1,477	0,516	1,459	1.605	5,951	0,425	1.575	0.9876	1,0126	3.778	0.2647
22	0,640	0,167	0,647	0,534	1,466	0,528	1,448	1,659	5,979	0,434	1,566	0.9882	1,0119	3,819	0,2618
23	0.626	0.162	0.633	0.545	1.455	0.539	1,438	1,710	6.006	0,443	1.557	,0,9887	1,0114	3,858	0,2592
24	0,612	0,157	0,619	0,555	1,445	0,549	1,429	1,759	6,031	0.451	1,548	0,9892	1,0109	3,895	0,2567
25	0,600	0,153	0,606	0,565	1,435	0,559	1,420	1,806	6,056	0.459	1,541	0,9896	1,0105	3,931	0,2544
Sursa: ASTM, Philadelphia, PA, USA.															

5.2 Fi§e de control pentru valori individuate *(X)*

In unele situafii de control a procesului, este fie imposibil, fie nu este practic, sa se objina subgrupuri rationale. Timpul sau costul necesar obtinerii unei observafii este atat de mare incat nu se poate lua Tn considerare repetarea observation Aceasta" situate poate sa fie tipica" pentru masura'rile costisitoare (de exemplu in cazul Tncercarilor distinctive) sau pentru situape Tn care rezultatele procesului sunt relativ omogene Tn orice moment. Tn alte situatii nu exists decat o singura valoare posibila, de exemplu citirea unui instrument sau proprietatea unui lot de materiale. Este necesar ca Tn astfel de situatii controlul procesului sa se bazeze pe citiri individuate.

In cazul fiselor pentru valori individuale, pentru ca nu exists subgrupuri rationale pentru a furniza o estimare a variabilita{ii Tn cadrul unui lot, limitele de control se bazeazS pe ma'surarea variable! obfinute din amplitudinea mobila* Tntre doua observatii. Amplitudinea mobila" este diferen^a absolute Tntre perechile succesive dintr-o serie de masurari, cu alte cuvinte diferenja dintre prima si a doua masurare, apoi dintre a doua si a treia masurare si asa mai departe.

Pornind de la amplitudinile mobile, se calculeaza" amplitudinea mobila medie *R* si se utilizeaza pentru construirea fiselor de control. Media generalSX se calculeazS pe baza tuturor datelor. Tabelul 3 prezinta formulele limitelor de control pentru fisele de control pentru valori individuale.

Pentru a utiliza fisele de control pentru valori individuale trebuie luate anumite precau^ii.

a) Fisele pentru valori individuale nu sunt la fel de sensibile ca fisele X si *R* la schimbarile proceselor.

b) Daca" distribute procesului nu este normala, interpretarea fiselor pentru valori individuale trebuie fScuta cu atentie.

c) Fisele pentru valori individuale nu izoleaza" elementele repetabile de la esantion la esantion ale procesului §i deci, pentru anumite utilized se poate prefera utilizarea unei fise conventjonale X si *R* cu efective mici ale esantioanelor din subgrupuri (2 panS la 4) chiar daca aceasta necesita o perioada" mai lungS Tntre subgrupuri.

Tabelul 3 - Formulele limitelor de control ale fiselor pentru valori individuate

Statistica	F£ri valori standard date Linia centrala	LCS si LCI	Cu valori standard date Linia central^	LCS si LCI
Valori individuale, X	*X*	$X \pm E_2 R$	XQ sau //	$X_Q \pm 3cTo$
Amplitudine mobila", *R*	*R*	D_4R , D_3R	RO sau dyz_0	Dzcfo . $0icr_0$
NOTE 1 - *Xo , RQ* . // ?i TO sunt valori standard date. 2 - *R* reprezinta amplitudinea mobiia medie pentru *n* - 2 observa(ii 3 - Valorile coeficientflor *d? ,* Di, Dj, Da, D4 §i irtdirect, *Ei (*= 3/cfe) se pot obtine din tabelul 2 pentru *n* = 2				

5.3 Fife de control pentru mediane (Me)

Fisele pentru mediane reprezinta alternative pentru fiseleX si *R* pentru controlul unui proces cu date otyinute prin mSsurare; acestea conduc la concluzii asema'na'toare si posed3 avantaje specifice. Se utilizeazS cu u^urinta si nu necesitd atatea calcule. Acestea pot grSbi acceptarea fiselor de control intr-un atelier de produc^ie. Deoarece se reprezinta valorile individuale (ca si medianele), fisa pentru median^ arat5 imprastierea rezultatelor procesului si oferS o imagine continuS a variajiei proceselor. '

Limitele de control ale fiselor pentru rhediane se calculeaza In doua moduri: utilizand mediana medianelor subgrupurilor si mediana amplitudinilor; sau folosind media medianelor subgrupurilor si media amplitudiilor. In prezentui Standard International se ia Tn considerare numai ultima varianta care este mai simp!5 si mai convenabila.

Limitele de control se calculeazS dupa cum urmeazl 5.3.1

Fisa de control pentru medians Linia centrala = *Me* =

media medianelor subgrupurilor. LCS_{Me} = Me + *A^R*

LCI_{Me} =

Fisa amplitudinii se construieste tn acelasi fel ca si ?n cazul fiselorX §i *R* la 5.1.

Valorile constantei A_4 se prezinta* in tabelul 4.

Tabelul 4 - Valorile pentru At

n	2	3	4	5	6	7	8	9	10
*4	1,88	1,19	0,80	0,69	0,55	0,51	0,43	0,41	0,36

Se remarca' faptul ca fisa pentru mediana cu limitele 3o ofer§ un raspuns mai lent la condtyile de pierdere a st^rii de control decat fisa X.

5.3.2 Fisa pentru amplitudine

Linia centrala = *R* = valoarea **medie a valorilor *R* pentru toate subgrupurile**

$LCS_R = D_4R$

$LCI_R = D_3R$

Valorile coeficien^ilor **03** si **04 se prezintS In** tabelul 2.

6 PROCEDURI DE CONTROL §I INTERPRETARE A F!§ELOR DE CONTROL PRIN MASURARE

Sistemul de fise **Shewhart** stipuleaza c3, dac2 variabilitatea proces3rii piesa **cu** piesa **si media procesului raman constante la nivelurile actuate** (asa **cum se estimeazS prinRsi** respect! vX), amplitudinele subgrupurilor **individuale** *(R)* si mediile **(X) trebuie** sS varieze numai **aleatoriu si deci rareori** s3 **aparS** depSsiri ale limitelor de **control. Tn** acelasi **mod, nu trebuie** s§ apara tending **sau** alte **modele evidente ale datelor, Tn afara celor cate -apar In mod cu** adevarat **aleatoriu.**

Fisa X **arata*** dac§ **media** procesului este central^ si indica[1] **stabilitatea procesului.** Fisa X pune In evident **variable nedorite Intre subgrupuri, Tn m3sura In care acestea privesc mediile lor. Fisa *R* prezinta" orice** variatie nedorita **Tn cadrul subgrupurilor si este un indicator al** mSrimii variability! **procesului studiat. Este o** masura a consecven|ei **sau** uniformita{ii **procesului. Fisa *R* rdmane sub control** daca **variafiile din cadrul subgrupurilor sunt In** esen^a **aceleasi. Acest lucru se Intdmpld dac£ toate esantioanele beneficiazS de acelasi tratament. Dad fisa *R* nu rSmdne sub control, sau** daca" **nivelul** acesteia **creste,** aceasta **poate** indica fie ca diferite **subgrupuri sunt tratate** diferit, **fie c£ diferite sisteme de** cauze **- efect ac^ioneazd asupra procesului.**

FiseleX pot fi de asemenea afectate de conditiile de pierdere a controlului **pe fisa *R.*** Deoarece performanfele **In** interpretarea **fie a amplitudinilor subgrupurilor, fie a mediilor** subgrupurilor, **depind de estimarea** variability **de la** piesS **la** piesS, fisa ***R se* analizeaza** prima. Se recomand§ a se aplica **urmStoarea procedure de control.**

6.1 Culegerea si analiza datelor, calcului **mediilor si al amplitudinilor.**

6.2 Se traseazS mai intdi fisa *R.* Se verified, in raport cu limitele de control, datele corespunzStoare punctelor care descriu o tending sau un model nenatural. Pentru fiecare situate care indica existenfa unei cauze desemnabile In datele amplitudinii, se face o analiza* a procesului pentru identificarea cauzei, corectarea situate! si prevenirea repetdrii acesteia.

6.3 Se exclud toate subgrupurile afectate de o cauz§ desmnabila" **identificabild; apoi se** recalculeaza si traseaza **noua amplitudine medie *(R)* si noile limite de control. Se confirms faptul cS toate punctele amplitudinii** evidentiaza" starea **de control statistic Tn raport cu noile limite, sau In caz** contrar se repeta **secven^a identificare / corectare / recalculare.**

6.4 Daca **un subgrup a** fost **eliminat de pe fisa** *R,* **ca** urmare **a unei cauze desmnabile identificate, acesta trebuie de asemnea exclus si de pe fisa X. Valorile revizuitefi si X trebuie utilizate pentru recalcularea limitelor de control pentru medii, X ±**

NOTA 2 - Excluderea subgrupurilor reprezentand situa(ii in afara controlului nu este tocmai "a elimina date rele". Mai degrabd, prin excluderea punctelor afectate de cauze desemnabile cunoscute, avem o estimare mai bund a variatiei niveiului de baz§ datorat cauzelor aleatoare. Aceasta, pe scurt, reprezintS cea mai potrivita baza pentru limitele de control utilizate cu scopul de a detects mai eficient viitoarele aparitii de cauze desemnabile ale varia(iei.

6.5 Daca amplitudinile sunt in **stare de control statistic, Tmpra'stierea procesului** (variajia **Tn cadrul unui subgrup) este** considerate stabila. **Mediile pot** fi **analizate pentru a vedea dac£ localizarea procesului se modified In limp.**

6.6 Acum se traseaza fisa *X* si se verifica, Tn raport cu limitele de control, datele corespunzStoare punctelor situate Tn afara limitelor de control sau corespunza'toare punctelor care descriu o tending sau un model nenatural. Ca si la fisa *R,* se analizeaza" toate situaflile Tn afara stSrii de control si se adopts act,iuni corective si de prevenire. Se exclud toate punctele iesite de sub control pentru care au fost identificate cauze desemnabile; se recalculeazS si se traseaza noua medie a procesului (X) si limitele de control.

Se confirm! faptul ca toate punctele datelor arata starea de control Tn raport cu nolle limite, sau Tn caz contrar se repetsS secvenfa identificare/ corecjie/ recalculare.

6.7 Daca datele initiate, pentru stabilirea valorilor de referinja ale limitelor de control, se gSsesc Tn mod evident Tn interiorul limitelor de evaluare, se extinde utilizarea limitelor pentru perioadele viitoare. Aceste limite trebuie si fie folosite pentru control Tn timpul procesului, de catre personalul responsabil (operator si/sau inspectoral pentru calitate) prin acfluni rapide, atunci cand fisa *X* sau *R* semnaleaza situape Tn afara starii de control.

7 TESTE DE MODEL PENTRU CAUZE DESEMNABILE ALE VARIATIEI

In figura 2 se prezinta[1] schematic un ansamblu de opt teste suplimentare utilizate pentru interpretarea modelelor pe fise Shewhart. Pentru o tratare mai completa a acestor teste, a se vedea [2] si [3].

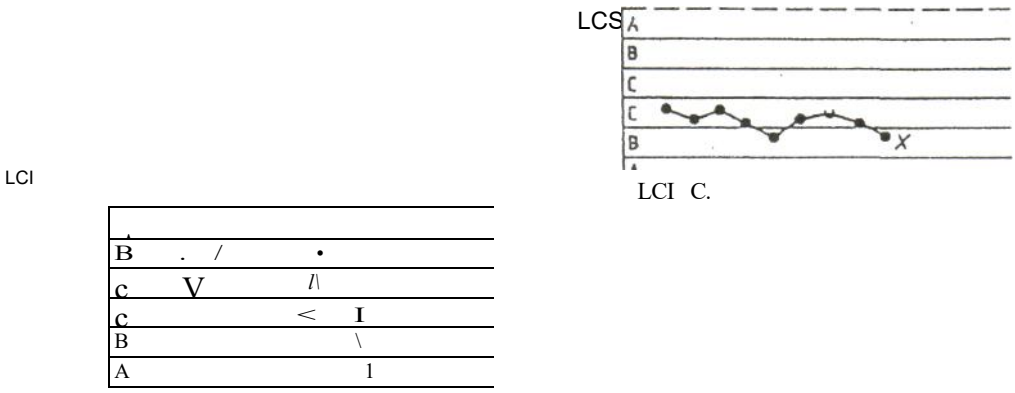
Cu toate ca aceste teste se pot utiliza ca un ansamblu de teste de baza, este necesar ca analistii sa fie alertafl de toate modelele unice ale punctelor care pot indica influenta unor cauze speciale asupra procesului. Aceste teste trebuie deci privite ca simple reguli practice pentru a actions atunci cand se semnaleaza prezenja unor cauze desemnabile. Semnalafea uneia din situape stipulate Tn aceste teste este o indicate a prezentei unor cauze desemnabile ale varia^iei care trebuie diagnosticate si corectate.

Limitele de control superioara" si inferioara sunt situate la o distan^ de 3a deasupra si dedesubtul liniei centrale. In scopul aplicarii testelor, fisa de control se Tmparte Tn mod egal Tn sase zone, fiecare zona avand IStimea de 10. Aceste zone sunt denumite A, B, C, C, B, A, cu zona C plasata simetric Tn raport cu linia centrala. Aceste teste se aplicS fiselorX si celor pentru valori individuate $(X)^{m)}$. Se presupune ipoteza unei distribu|ii normale.

8 CONTROLUL PROCESULUI SI CAPABILITATEA PROCESULUI

Functia unui sistem de control al procesului este de a furniza un semnal statistic atunci cand sunt prezente cauze desemnabile de variajie. Eliminarea sistematica a cauzelor desemnabile de variable excesiva', prin eforturi continue, aduce procesul Tn stare de control statistic. O data ce procesul opereazS sub control statistic, performance sale sunt previzibile si se poate estima capabilitatea sa de a rSspunde specificatiilor.

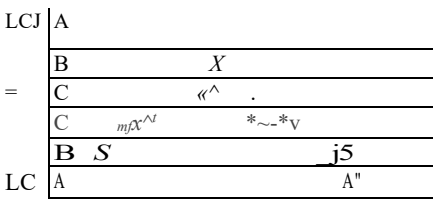
NOTA NATIONALA N1) - Aceste teste se aplica §i fiselor pentru medians , amplitudine si abatere standard.



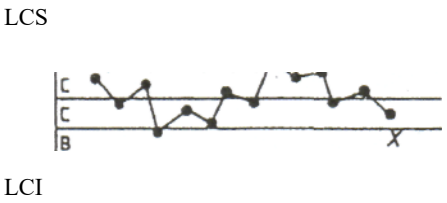
Testull: Un punct in afara zonei A

LCI C.

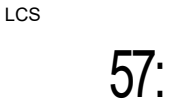
Testul2: Noua puncte consecutive in zona C sau de aceeasi parte a liniei centrale



TestulS: $ase puncte consecutive constant crescatoare sau descrescatoare



Testul4: Patrusprezece puncte consecutive care alterneaza' tn sus ?i in jos



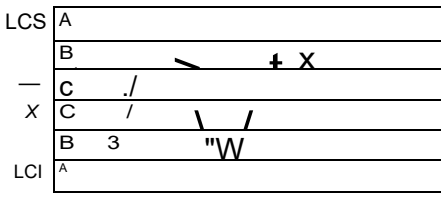
LeiET---------- \ -

TestulS: Doua din trei puncte consecutive in zona A sau dincolo de aceasta

Testul6: Patru din cinci puncte consecutive in zona B sau de aceea$i parte a liniei centrale

LCS

LCI



Testul?: Cinsprezece puncte consecutive Tn zona C deasupra si dedesubtul liniei centrale

TestulS: Opt puncte consecutive de ambele parfi ale liniei centrale fSra nici unul Tn zona C

Figura 2 - Teste pentru cauze desemnabile

Capabilitatea procesului este determinate de variat.ia totala care provine din cauzele comune, variatia minima care se poate obtine dupa eliminarea tuturor cauzelor desemnabile. Capabilitatea procesului reprezintS performanta procesului tnsusi, care este demonstratS atunci cand procesul opereazS Tn starea de control statistic. De aceea, procesul trebuie adus Tn starea de control statistic Tnainte de a i se putea evalua capabilitatea. Astfel, evaluarea capabilitat,ii procesului Tncepe dupa rezolvarea problemelor din ambele fi§e X si *R* ; cu alte cuvinte, se identified, se analizeaza, se corectezS cauzele speciale, si se previne reaparitia lor iar fisele de control indica un proces ra"mas sub control statistic eel putin Tn ultimele 25 de subgrupuri. Tn general, distributia rezultatelor procesului se compara cu specifica{iile ingineresti pentru a vedea daca aceste specificatii pot fi consecvent respectate.

Capabilitatea procesului se masoara In general prin indicele de capabilitate a procesului PCI (sau c_p) dup3 cum urmeaza :

toleranta precizata _ LST - L/7
TmprSstierea procesului 60

unde

LST este limita superioarS de tolerant,a;
LIT este limita inferioarade toleranta;
6 se estimeaza pe baza variabilitStii medii din cadrul unui subgrup si se-exprirrici prin s / c_4 sau

R/d_z.

O valoare PCI mai mica de 1 indica faptul c5 procesul nu este capabil, in timp ce PCI = 1 indica faptul ca procesul este abia capabil. fn practica o valoare a PCI de 1,33 se ia ca valoare minimum acceptabila deoarece exista Tntotdeauna o variatie a esantionaYii si nici un proces nu este Tn Tntregime In stare de control statistic."[21]

Trebuie, totusi, notat ca PCI masoara numai rela^ia dintre Tmprastierea procesului Tn raport cu toleranta stabilita; nu se ia Tn considerare localizarea sau centrarea procesului.

Pot sa existe unele procente de valori Tn afara limitelor specificate cu o valoare mai mare a PCI. Din aceasta cauza, este important s§ se considere distanta pe scara dintre media procesului si cea mai apropiata limits a specificatiei. Informatii suplimentare pe aceasta" tema depasesc obiectul prezentului Standard International.

Avand Tn vedere cele prezentate mai sus, se poate utiliza drept ghid o procedural prezentata schematic Tn figura 3, pentru a ilustra pasii cheie care conduc la imbunata^irea si controlul procesului.

9 FI§E DE CONTROL PRIN ATRIBUTE

Datele prin atribute reprezinta" observable obflnute prin notarea prezentei sau absence! anumitor caracteristici (sau atribute) din fiecare unitate a subgrupului considerat, apoi prin numSrarea numSrului de unit^i care au sau sau nu atributul, sau cate astfel de evenimente apar pe o unitate, grup sau suprafajS. Datele prin atribute se otyin in general rapid si sunt necostisitoare si adesea nu necesit5 calificare special! pentru a fi culese. Tabelul 5 prezinta formulele limitelor de control ale fiselor de control prin atribute.

Tabelul 5 - Formulele limitelor de control ale fiselor Shewhart de control prin atribute

Statistical	Fara valoi Linia centrala	•/ standard date Limite de control 3a	Cu valoi Linia centrala	1 standard date Limite de control 3a
P	P	-. /P(1-P)	Po	+ 3/Po(1-Po)
		P V *n*		V *n* .
np	*np*	*np* ± 3^/np(1 - p)	npo	np_0±3^/np_0(1-p_0)
c	*c*	c±3^	c_0	GO i 3yCg
u	*u*	[illegible]	"o	[illegible]
NOTA - po, np_0, Co §i u_a sunt valori standard date				

NOTA NATIONALA N2) - in paralel cu c_p se folose§te frecvent §i indicele de performanta a procesului Cpi,, care exprima masura in care procesul este central pe valoare urmarita *T.* Fn cazul in care *T* este mijlocul campului de toleranta precizat, adica: *LST- T= T- LIT*

^{c}pk

^nt —

in practica un proces se considera capabil daca: $C_p > 1$ si $C_pk \geq 1$
Aceasta considerate este valabila §i pentru figura 3.
Exista cazuri in care deciziile se iau numai pe baza indicelui de performanta Cp*.

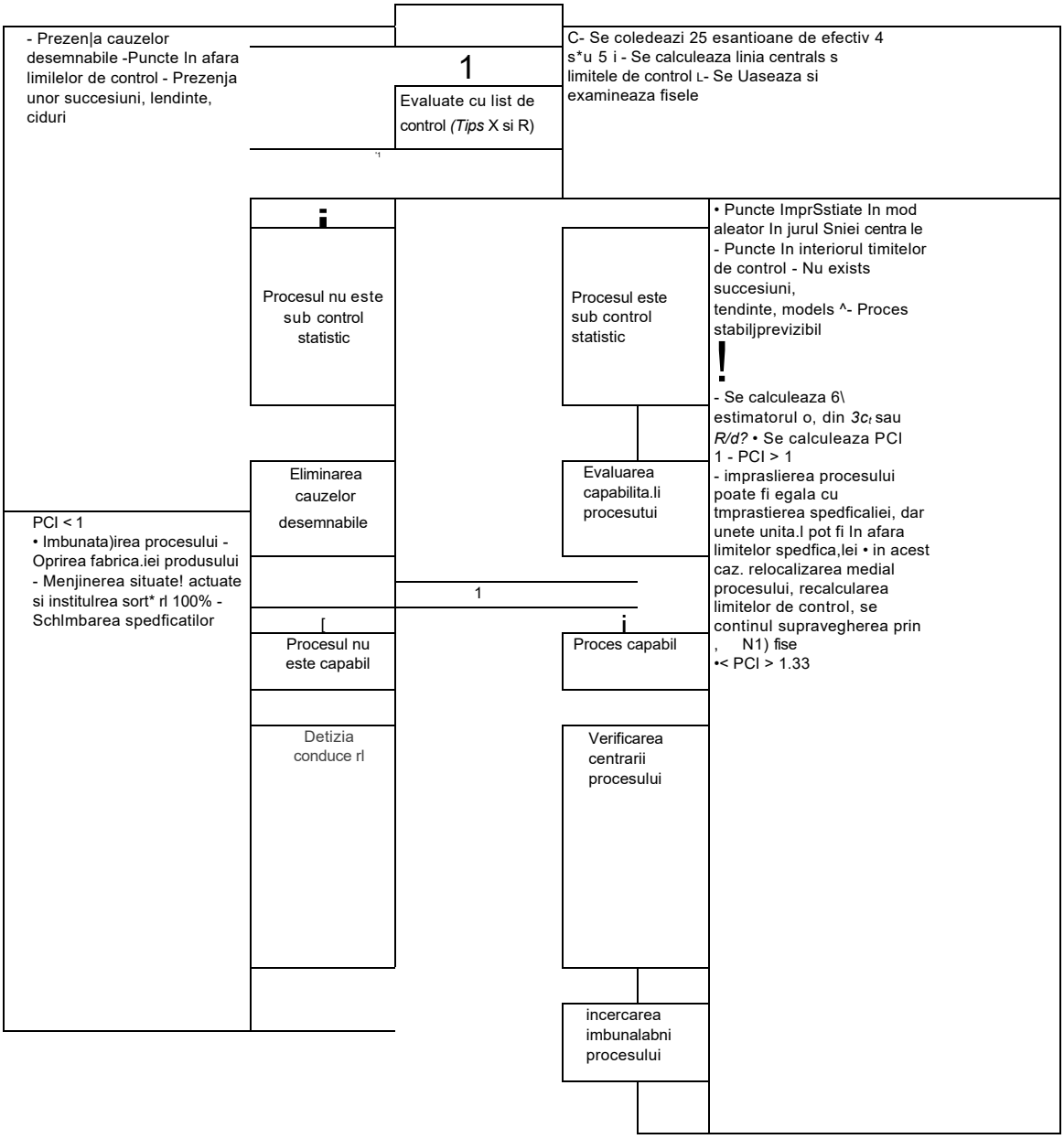


Figura 3 - Strategia imbunatatirii procesului

In cazul flselor de control prin masurare, se pSstreaza de obicei o pereche de fise de control, una pentru controlul mediei si una pentru controlul dispersiei. Acest lucru este necesar pentru ca legea de distribute care st3 la baza fiselorde control prin m5surarea este distributia normala", care depinde de acesti doi parametri. In cazul fiselor de control prin atribute, este suficienta o singura fi?a, pentru ca* distributia asumata nu are decat un singur parametru independent, nivelul mediu. Fisele p si np se bazeaz§ pe distribu{ia binomiala, Tn timp ce fisele c si *u* se bazeaza pe distributia Poisson.

Calculele pentru aceste fise sunt similare, cu exceptia cazurilor in care variabilitatea efectivului subgrupurilor afecteazS situat,ia. C5nd efectivul subgrupului este constant, acelasi set de limite de control se poate utiliza pentru fiecare subgrup. Totusi, dacS numarul de unitati inspectate Tn fiecare subgrup variaza", trebuie calculate limite de control separate pentru fiecare subgrup. Fisele np si *c* se pot utiliza rezonabil cu un efectiv al esantionului constant, Tn timp ce fisele p si u se pot folosi Tn orice situatje.

In cazul Tn care efectivul esantionului variaza de la e§antion la esantion, se calculeaza" limite de control separat pentru fiecare esantion. Cu cat efectivul esantionului este mai mic, cu atat este mai largS banda de control §i invers. Daca efectivul subgrupurilor nu variaza' Tn mod apreciabil, atunci se poate utiliza un set unic de limite de control bazat pe media efectivelor subgrupurilor. In scop practic, acest lucru este adecvat situatiilor Tn care efectivul subgrupului este cuprins Tn intervalul ± 25% din efectivul subgrupului urmarit.

O alta metoda pentru situatjile Tn care efectivul esantionului variaza mult este utilizarea unei variabile standardizate. De exemplu, Tn loc s5 se reprezinte p, se reprezinta valoarea standardize!!

$$P\text{-}Po$$

sau

$$\frac{2}{\sqrt{p(1-p)/n}}$$

dupa cum se precizeaza sau nu valoarea standard pentru *p.* Linia centrala, ca si limitele de control devin constante, independent de efectivul subgrupului §i se prezinta" astfel

linia centrala = 0

LCS = 3 LCI = - 3

Fi§a *p* se utilizeazJI pentru determinarea procentului mediu de unita^i neconforme prezentate Tntr-o perioada" de timp. Aceasta atrage atentia personalului responsabil al procesului asupra oricarei modificari a acestei medii. Procesul se considera a fi Tn starea de control statistic Tn acelasi mod ca si pentru fiseleX si *R.* Dac5 toate punctele esantionului se gSsesc Tn interiorul limitelor de control experimentale, fara a se indica existenta unei cauze desemnabile, se spune c§ procesul este sub control, fn acest caz, valoarea medie a fractiunii neconforme, p , se ia ca valoare standard pentru fractJunea neconform5, PQ.

10 CONSIDERATH PRELIMINARE INAINTEA INITIERII UNEI FI§E DE CONTROL

10.1 Alegerea caracteristicilor de calitate

Se aleg caracteristicile de calitate pentru programul de control. Se iau Tn considerare Tn primul rand caracteristicile care afecteazS performantele unui produs sau serviciu. Acestea pot fi aspecte ale serviciului oferit sau proprietaji importante ale materialului utilizat, aspecte ale plrjilor componente ale produsului, ca si ale produsului livrat cumpara'torului. Se recomanda ca metodele de control statistic sa se introduca Tn primul rand acolo unde fisa de control se foloseste pentru a da informatii asupra procesului Tn timp util astfel ca procesul s3 poatS fi corectat si ca sa se livreze un serviciu sau produs mai bun. Caracteristicile de calitate ale procesului sau serviciului trebuie alese astfel Tnc§t sa alba" un efect decisiv asupra calita'tii produsului sau serviciului si s§ asigure stabilitatea procesului.

10.2 Analiza procesului de productie

Se realizeazS o analiza' detaliatS a procesului pentru a se determina:

a) tipul si localizarea cauzelor care pot genera neregularitati;

b) efectele impunerii specification

c) metoda si locul desfasurarii inspectiei;

d) toti ceilalti factor! semnificativi care pot afecta procesul.

Se recomanda de asemenea realizarea unei analize pentru a determina stabilitatea procesului de produce, precizia echipamentului de productie si incercare, calitatea produselor si serviciilor livrate si modul de corelare Tntre tipurile de neconformitafi si cauzele care le determine. Sunt necesare condipe operatiilor si a calitatii produsului, pentru a permite ajustarea procesutui de productie cu echipamentul si dup§ caz, s5 se conceapa planurile pentru controlu! statistic al procesului de productie. Acesta ajuta la punerea In eviden^a a amplasa'rii optime a controalelor §i la identificarea rapida a oricarei neregularitcty in performant,ele procesului de productie pentru a permite o acflune corectiva prompts.

10.3 **Alegerea** subgrupurilor rationale

Ideea central^ a lui Shewhart, aflatS la baza fiselor de control, este de a Tmp5r|i observable in ceea ce se cheama "subgrupuri rationale", cu alte cuvinte clasificarea observatjilor considerate in subgrupuri, in interiorul carora variable se pot considera c§ provin numai din cauze aleatorii si tntre care toate diferenjele se pot datora unor cauze desemnabile pe care fisa de control se presupune c3 le detecteaza.

Aceasta depinde de cunostin^ele tehnice si de cunoastere a condipor de produc(ie si a conditiilor in care se preleveaza datele. Prin identificarea fiecarui subgrup cu un moment in timp sau cu o sursa, se pot identifica si corela mai usor cauzele specifice de perturbare ale procesului daca este mai avantajos. InregistrSrile inspectiilor si Tncercarilor Tn ordinea desfSsurarii lor, constituie o baza pentru plasarea subgrupurilor Tn timp. Acest lucru este de regulS util in procesul de fabricate pentru ca este important ca un sistem de cauze din productie sa se menJinS constant Tn timp.

Se remarca faptul ca analiza este mult usuratci daca, pe langa planificarea pentru culegerea datelor se aleg astfel esantioanele fncat datele din fiecare subgrup s§ poatS fi tratate ca un subgrup rational si subgrupurile s5 fie identificate TncSt *sS* permits acest lucru. De asemenea, atat cat este posibil, este convenabil s3 se pSstreze constant efectivul subrupului, *n,* fn scopul evitSrii aspectului plicsititor ai calculelor si interpretSrii. Totu§i, trebuie notat ca principiile fiselor de control Shewhart se pot aplica §i, Tn situatiile Tn care n este variabil.

10.4 **Frecven^a §i efectivul** e§antioanelor

Nu se pot formula reguli generate pentru frecvenfa subgrupurilor sau pentru efectivul lor. Frecven^a poate depinde de costul de prelevare si de analiza a esantioanelor §i efectivul subgrupului poate depinde de consideratji practice. De exemplu, subgrupuri mad prelevate la intervale cu o frecventS mai mica" pot detecta o modificare micS a mediei procesului jntr-un mod mai precis, dar subgrupuri mici prelevate mai frecvent detecteazS modifica'ri importante mult nrtai rapid. Adesea, efectivul subgrupului este de 4 sau 5, Tn timp ce frecvenja de esantionare este Tn general ridicata la Tnceput si coboara" atunci cand se atinge starea de control statistic.

In mod normal, 20 sau 25 de subgrupuri cu efectivul 4 sau 5, se considers corespunzatoare pentu a oferi estim§ri preliminare.

Este important de observat ci frecventa de esantionare, controlul statistic si capabilitatea procesului trebuie luate Tn considerare simultan. Rafionamentul este urmatorul: valoarea amplitudinii medii *R* este adesea utilizata pentru a estima a ; numSrul surselor de variatie creste pe masura ce intervalul de timp dintre esantioanele din cadrul unui subgrup creste. Astfel Tmprastierea Tn timp a esantioanelor din cadrul unui subgrup conduce la cresterea lui *R* si a estimSrii a, largeste limitele de control si deci, apare o scSdere a indicelui de capabilitate al procesului. Invers, este posibil sa se mareasca capabilitatea procesului prin e§antionarea pieselor consecutive, conducand la R si la o estimare pentru a, mici, dar este greu de atins starea de control statistic.

10.5 Culegerea datelor preliminare

Dupa stabilirea caracteristicii de calitate care se controleaza\ frecven^a §i m§rimea subgrupului de prelevat, se colecteaza cateva date de inspectie initiala sau masurari pentru furnizarea unor valori preliminare pentru fi§ele de control necesare pentru determinarea liniei centrale si trasarea pe fisa a limitelor de control. Datele preliminare se pot preleva subgrup cu subgrup, pand cand se obt,in 20 - 25 de subgrupuri Tn timpul unui proces nemtrerupt de productie. Trebuie acordata atent,ie ca, Tn timpul prelevarii acestor date initJale, procesul sa nu fie influent,at Tn mod excesiv de factor! extemi intermitent,!, cum sunt modifica'ri la furnizarea

materiilor **prime,** modificari ale amplasarii ma§inilor **etc. Deci,** procesul **trebuie s3** demonstreze **o stare de** stabilitate **in perioada de colectare a** datelor **initiate.**

11 ETAPELE CONSTRUIRII FI§ELOR DE CONTROL

Etapele de construire **ale fiseiXsi ale** fisei *R,* In cazul **in care nu se** da" **nici o valoare standard, sunt descrise la** punctele **11.1** pana" **la 11.5.** Acesea **sunt descrise sub** forma" **de exemple la punctui 12.2. Pentru construirea altor fise de control se urma'resc aceleasi etape de baza", dar constantele de calcul sunt diferite (a se vedea tabelul 1 si** tabelul **2).** Formatul **general al unei** fise **de control se** prezinta" **Tn** figura **4. Tn functje de** necesita(ile **specifice ale unei** situafii **concrete a controlului procesului se pot aplica** modificari pe acest **formular.**

11.1 Daca" datele preliminare nu sunt prelevate **fn** subrupuri **conform unui plan** prestabilit, **se divide fntreg ansamblul de date Tn subgrupuri** secvenfiale, dupa" criterii **pentru subgrupurile rationale, dup5 cum se arata* la punctui 10.3. Subgrupurile trebuie s3** aiba **ceea ce se** apreciaza[1] **a fi un factor comun important, de exemplu** unitati **produse Tn acelasi interval scurt de timp sau unita^i provenind de la una din mai multe** surse **sau din** acela?i loc. **Diferite subgrupuri trebuie** sa" reprezinte diferenje posibile sau suspectate **Tn procesul Tn care se** obtin **de exemplu diferite intervale de timp sau locuri.**

11.2 Pentru fiecare subgrup se calculeaza* media X si amplitudinea *R.*

11.3 Se calculeaza" **media** general! a tuturor valorilor observate,X§i **amplitudinea** medieR .

11.4 Se traseaza* pe un formular adecvat o fisa" X si **o fisS *R.* Axa** verticals **din stSnga se** utilizeaza" **pentru valorileX§i *R* iar cea** orizonta!5 **pentru num5rul subgrupului. Se** traseazS **valorile calculate pentruXpe fi§a pentru medie si cele pentru *R* pe fi§a pentru amplitudine.**

11.5 Pe fisele corespunza*toare se traseazd linii orizontale **continue pentru a reprezenta*X* si *R* .**

11.6 Se plaseazS limitele **de control pe** aceste **fise. Se traseaza' doua* linii orizontale Tntrerupte pe** fisa X la distan^a $X \pm A_2R$§i **pe fisa *R* la** distanfa D_3R si D_4R, **unde Az. Da §i £?4 se bazeazS pe *n,* numSrul** observatiilor **dintr-un subgrup si care sunt prezentate Tn tabelul 2. Limita de control inferioara* LCl de pe fisa *R* nu este necesara* atunci cdnd *n* este mai mic** deceit 7, pentru c5 **valoarea *D$* corespunzStoare se** consider^ zero.

Fisa **de control**

Operatia												Efectivul e$a'ntionului									Caracteristici															
Sp	acif	cat	a:	L(L	:SCl			D<	ta		T				D	:pa	rtai	nen	t				P i	iSpO	nsat	il	cal	itatt	!				J —	
"g c																																			
T3 ^ a < Numsih^j	anilipr	1			3	*	5	6	7	8	9	1	0	11	12	1	3	14	15		16	17	1£	)	19	20	2	1	22	23	2	4	25			
	1																																		
	2																																		
	3																																		
	4																																		
	5																																		
Suma																																		
Media X"																																		
AmplitudJne R																																			

Figura 4 - Formatul **general al** fi§ei **de control**

12 EXEMPLE : FI§E DE CONTROL PRIN MASURARE

12.1 Fi§a *X* §i fi§a R: valori standard date

Directia de productie a unui importator de ceai dore§te sa controleze procesul de ambalare in a§a fel Tncat greutatea medie a'pachetelor sa fie de 100,6 g . Abaterea standard presupusa a procesuiui este de 1,4g bazata pe procese de impachetare similare.

Deoarece se dau valori standard *(Xo*= 100,6 , a_0= 1,4), fisele de control pentru medie si amplitudine se pot construi imediat utilizand formulele prezentate in tabelul 1 si factorii *A , 62 , D^* si *D* din tabelul 2 pentru n = 5.

Fi§a *X*

Lima centrala = XQ
= 100,6g

LCS = X_0 + -4oo
= 100,6+ (1,342 x 1,4) =
102,5

LCI =X_0 -,
= 100,6-(1,342 x 1,4)
= 98,7 g

Fi§aR

Linia central^ = cfe o_0
= 2,326x1,4
= 3,3g

LCS = D2 oo
= 2,326x1,4
= 6,9

LCI = DI o_0
= 0 x 1,4 (deoarece *n* este mai mic dec§t 7, nu se reprezinta" LCI)

Se preleveaza apoi 25 de esantioane cu UP. efectiv de 5 unitati; se calculeaza si se traseaza valorile mediei si ale amplitudinii subgrupurilor (a se vedea tabelul 6) cu limitele de controlul calculate mai sus (a se vedea figura 5).

Fisele prezentate Tn figura 5, arata ca procesul nu este sub control la nivelul dorit deoarece exista o secventa de 13 puncte sub linia centrala pe fisa X si de 16 puncte deasupra liniei centrale pe fisa *R .* Trebuie cautata si eliminata cauza unei secvenje atat de lungi de valori coborSte ale mediei.

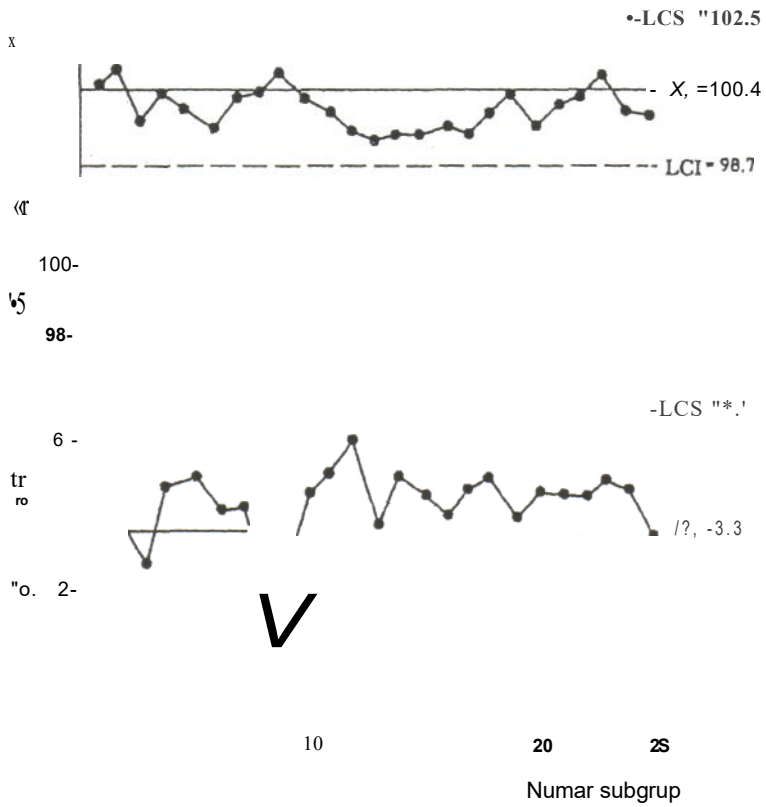


Figura 5 - Fisa pentru medie si **pentru amplitudine corespunzatoare** datelor **din tabelul 6**

Tabelul 6 - Ambalarea ceaiului

Numarul subgrupului	Media subgrupului X	nea subgrupului *R*
1	100,6	3,4
2	101,3	4,0
3	99,6	2,2
4	100,5	4,5
5	99,9	4,8
6	99,5	3,8
7	100,4	4,1
8	100,5	1,7
9	101,1	2,2
10	100,3	4,6
11	100,1	5,0
12	99,6	6,1
13	99,2	3,5
14	99,4	5,1
15	99,4	4.5
16	99,6	4,1
17	99,3	4,7
18	99,9	5,0
19	100,5	3,9
20	99,5	4,7,
21	100,1	4,6
22	100,4	4,4
23	101,1	4,9
24	99,9	4,7
25	99,7	3.4

12.2 Fi§a *X* §i fi§a *R:* faY3 valori standard date

in tabelul 7 se prezinta* masurarile razei exterioare a unei prize. Patru masura'ri se preleveaza* la fiecare juma'tate de orS pans' la un total de 20 esantioane. Mediile si amplitudinile subgrupului sunt prezentate de asemenea in tabelul 7. Tolerantele stabilite sunt 0,219dm si 0,125dm. Obiectivul urmdrit este evaluarea performan|elor si stSpanirea procesului Tn raport cu centrarea si impra§tierea sa astfel meat procesul sa corespundS specificafiilor.

$$\frac{\overset{k}{3.8480}}{20} = 0,1924$$

$$\frac{\overset{k}{0,5734}}{20} = 0,0287$$

Γ'

R =

Prima etapS este trasarea unei fise *R* si evaluarea starii sale de control.

FisaR

Linia central^ = R

ASOCIATIA DE STANDARDIZARE ASRO DIN ROMÂNIA

= 0,0287

LCS = D_4R •

= 2,282 x 0,0287
= 0.0655

LCI = D_3R

= 0 x 0,0287 (deoarece n este mai mic decai 7, nu se reprezint§ LCI)

Valorile coeficien^ilor Da si 04 se iau din tabelul 2 pentru *n*- 4. Deoarece valorilef? din tabelul 7 sunt Tn interiorul limitelor de control pe fisaR si nu se remarcci tending, fisa *R* indica* o stare de control statistic."[31] Se poate utiliza acum valoarea /? pentru a calcula limitele de control de pe fisaX.

FisaX

Linia centrals =X
= 0,19294

LCS sX + X^R
= 0,1924+ (0,729x0,0287) =
0.2133

LCI=X-A,R"
= 0,1924-(0,729x0.0287) =
0,1715

Valoarea coeficientului *AZ* se ia din tabelul 2 pentru *n* = 4. Fisele de control pentruX si *R* sunt trasate in figura 6. O examinare a fiseiXreleva" faptul c§ ultimile 3 puncte nu sunt sub control. Faptul indica" posibilitatea manifestSrii unor cauze de variable desemnabile. DacS limitele se calculeaza* cu datele precedents se poate lua o decizie la punctul 18.

In acest punct, se adopts o actiune corectivS pentru a elimina cauzele desemnabile si a preveni o reaparifie a lor. Se continuS procedura de completare a fisei cu stabilirea limitelor de control revizuite, prin suprimarea punctelor care se gSsesc in afara limitelor de control, adic3 a valorilor esantioanelor numerotate 18,19 si 20.

ValorileX, *R* si liniile de control ale fisei se recalculeaza* dupa" cum urmeazS:

$$\bar{\bar{X}} = \frac{\sum \bar{X}}{k} = \frac{3,3454}{17} = 0,1968$$

$$\bar{R} = \frac{\sum R}{k} = \frac{0,5272}{17} = 0,0310$$

Fisa X revizuiti

Linia centralS = X
= 0,1968

= 0,1 968 + (0.729x0,0310) =
0,2194

NOTA NAJIONALA N3) - In cazul prezentului exemplu, pentru simplificare s-a aplicat pentru fi$a *R* numai testul numarul 1 din figura 2.

$$LCI = X - A_2 R$$
$$= 0,1968 - (0,729 \times 0,0310)$$
$$= 0,1742$$

Fisa *R revizufta*

Linia central = R
$= 0.0287$

$$LCS = D_4 R$$
$$= 2,282 \times 0,0310 = 0,0707$$

$$LCI = D_3 R$$

= 0 x 0,0310 (deoarece *n* este mai mic decat 7, nu se reprezintS LCI)

Fi§ele de control revizuite sunt reprezentate in figura 7.

Tabelul 7 - Date Tnregistrate pe raza exterioara a unei prize

Numarul subgrupului	Raza				Media $\bar{X}$	Amplitudinea R
	Xi	X_2	X_3	X_4		
1	0,1898	0,1729	0,2067	0,1898	0,1898	0,0338
2	0,2012	0.1913	0,1878	0,1921	0,1931	0,0134
3	0,2217	0.2192	0,2078	0,1980	0,2117	0.0237
4	0,1832	0,1812	0,1963	0,1800	0,1852	0,0163
5	0,1692	0,2263	0.2066	0,2091	0,2033^	0,0571
6	0,1621	0.1832	0,1914	0,1783	0,1788	0,0293
7	0,2001	0,1927	0,2169	0,2082	0,2045	0.0242
8	0,2401	0,1825	0,1910	0,2264	0,2100	0,0576
9	0,1996	0,1980	0,2076	0,2023	0,2019	0,0096
10	0,1783	0.1715	0,1829	0,1961	0,1822	0,0246
11	0,2166	0,1748	0,1960	0,1923	0,1949	0,0418
12	0,1924	0,1984	0,2377	0,2003	0.2072	0,0453
13	0,1768	0,1986	0,2241	0,2022	0.2004	0,0473
14	0,1923	0,1876	0,1903	0,1986	0,1922	0,0110
15	0.1924	0,1996	0,2120	0,2160	0,2050	0,0236
16	0,1720	0.1940	0.2116	0,2320	0.2049™'	0,0600
17	0,1824	0,1790	0,1876	0.1821	0,1828	0,0086
18	0,1812	0,1585	0,1699	0.1680	0,1694	0,0227
19	0,1700	0.1567	0,1694	0,1702	0,1666	0,0135
20	0.1698	0,1664	0,1700	0,1600	0,1666	0,0100

NOTA NAJIONALA N4) - Se corecteaz§ In tabelul 7, valorile mediilor corespunzatoare subgrupului 5 (valoarea 0,2033 se inlocuie;te cu 0,2028) si subgrupului 16 (valoarea 0,2049 se Inlocuie§te cu 0,2024).

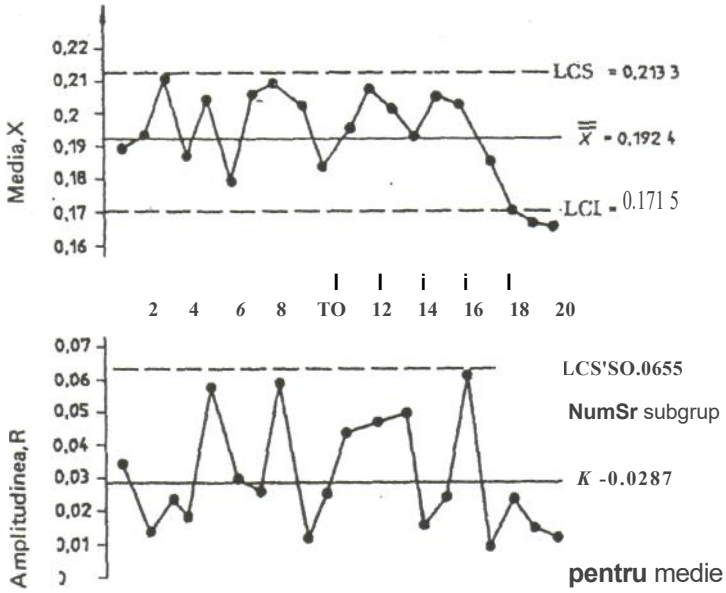


Figura 6 - Fif a amplitudine **tabelul 7** **pentru** medie si **pentru** corespunzStoare **datelor din**

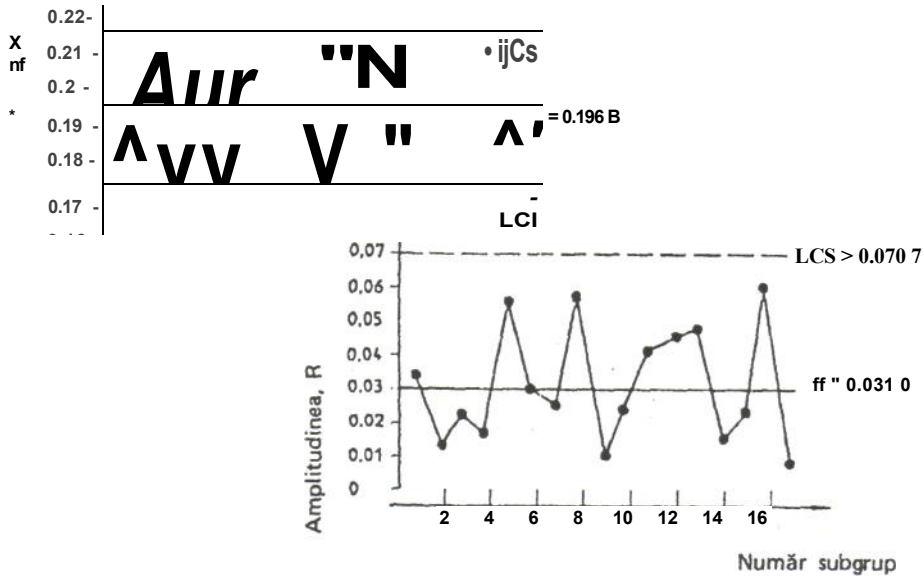


Figura 7 - Fi§e ***X$i R* revizuite pentru** datele **din tabelul 7**

Cu procesul intr-o stare de control Tn raport cu limitele de control revizuite se poate evalua capabilitatea procesului.

Se calculeaza"

$$PC/ = \frac{\text{tolerante stabilitS}}{\text{imprSijtierea procesului}} \sim \frac{\text{^LST-LTI}}{6a}$$

undeose estimeazS prinft/cb = 0,0310/2,059 = 0,0151.

Valoarea coeflcientul 03 se extrage din tabelul 2 pentru *n* = 4.

Astfel

$$\frac{0.12190\text{-}0,1250}{6x0,0151}$$

$$\frac{0,0940}{0,0910} = 1,0330$$

Deoarece PCI este mai mare deceit 1, procesul se poate considera capabil. Totusi, printr-o examinare aprofundata, se considera ci procesul nu este centrat exact Tn raport cu specificatia si de aceea aproximatia 11,8%[NS>] din valorile individuals sunt Tn afara limitei superioare stabilite. De aceea, Tnaintea stabilirii parametrilor definitivi ai fisei de control, trebuie sa se incerce centrarea procesului; Tn condipe ment,inerii unei stari de control statistic.

12.3 **Fifa de control pentru valori** individuate, X§i **amplitudine** mobila, *R* ; farS **valori standard date**

In tabelul 8 se dau rezultatele analizei Tn laborator a "procentului de umiditate" al esantioanelor extrase din 10 loturi succesive de lapte praf degresat. Un esantion de lapte praf degresat reprezentativ pentru un lot, se analizeazS in laborator pentru caracteristici diferite, cum sunt: grasime, umiditate, aciditate, indice de solubilitate, sedimentare, bacterii si proteine ale zerului. Se urmSreste men^inerea umiditStji la o valoare mai mica de 4% pentru acest proces. Variajia esantiona'rii in interiorul unui lot unic este neglijabila; de aceea se inregistreaza[1] o singura" observatie pe lot si se plaseaza limitele de control pe baza amplitudinii mobile pentru loturi succesive.

$$-= \frac{2,9 + 3,2 +...+ 3,5}{10}$$

$$\frac{34,5}{10} = 3,45\ \%$$

$$- \quad \frac{0,3+ 0,4+...+ 0,1}{9} = \frac{}{} = 0,38\ \%\ 9$$

Liniile fisei de control pentru amplitudini mobile, *R*

Linia central^ = *R* = 0,38

= 04f?

= 3,267 x 0,38 = 1,24

LCI = D3R

= 0 x 0,38 (deoarece *n* este mai mic decat 7, nu se reprezintS LCI)

Valorile coeficientjlor 03 §i *D^* se extrag djn tabelul 2 pentru *n* = *2.* Deoarece fisa pentru amplitudine indica o stare de control statistic, se poate realiza trasarea fisei de control pentru valori individuale.

NOTA NAJIONALA N5) - Din calcul rezultS c§ aproximativ 7,2% din valorile individuale vor fi Tn afara limitei superioare specificate §i nu 11,8% cum este fn versiunea engleza.

Liniile fi§ei **de control pentru valori individuate, *X***

Linia centrala = X = 3,45

= 3,45 + (2,66 x 0,38)
= 4,46

$LCI = X - E_2R$
= 3,45 - (2,66 x 0,38)
= 2,44

Formulele pentru limitele de control si valoarea corficientului E2 se extrag din tabelul 3 si din tabelul 4. Fisele de control se reprezinta in figura 8. Fisele de control indica" faptul ca procesul este sub control statistic.

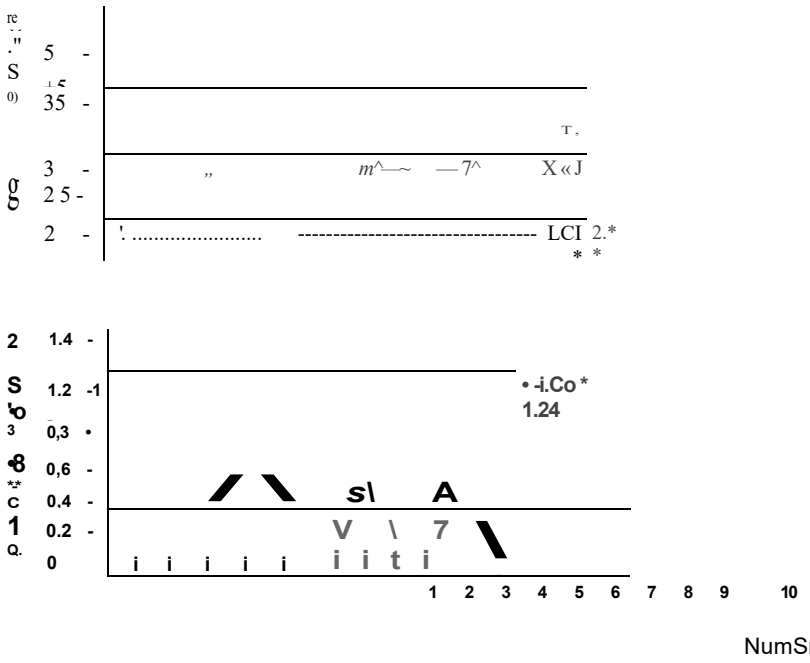


Figura 8 - Fisele de control pentru valori individuate, *X* pentru datele **din tabelul 8**

Tabelul 8 - Procentul de umiditate pentru 10 esantioane **succesive de lapte** praf **degresat**

Nr. lot	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
X : % umiditate	2,9	3,2	3,6	4,3	3,8	3,5	3,0	3,1	3,6	3,5
R : amplitudine mobila		0,3	0,4	0,7	0,5	0,3	0,5	0,1	0,5	0,1 a

12.4 Fi§e pentru mediana: Fara valori standards date

O masina produce discuri electronice cu grosimea precizata cuprinsa Intre 0,007 cm si 0,016 cm. Se preleveaza la fiecare juma'tate de ora esantioane cu un efectiv de 5 si se InregistreazS grosimea lor, in centimetri, asa cum rezulti din tabelul 9. Se decide sa se utilizeze o fisl pentru medians Tn scopul controlului calitatii. Valorile medianelor si amplitudinilor sunt prezentate de asemenea Tn tabelul 9.

Se calculeaza media medianelor si media amplitudinilor subgrupurilor dupa cum urmeaz5:

Me = media medianelor subgrupurilor

$$= \frac{1Z2}{15} =$$

R = media amplitudinilor

15

7 T "'

Fi§a pentru amplitudine se calculeaza dup5 cum urmeaza":

Fi§a *R*

Linia central^ = *R* =
5,73

LCS = D_4fl
= 2,114x5,73 =
12,11

LCI=D_3R
= 0 x 5,73 (deoarece n este mai mic deceit 7, nu se reprezintS LCI)

Valorile coeficienfllor 03 si *Dt,* se iau din tabelul 2 pentru n = 5. Deoarece fisa de amplitudine arata o stare sub control, se pot calcula liniile pentru fisa mediana.

Fife **de control pentru mediana**

Linia centralS = *Me* =
11,47

= *Me* + *A*^*R*
= 11, 47 + (0,69x5,73) =
15,42

= 11, 47 -(0,69x5,73)
= 7,52

Valoarea *A** se extrage din tabelul 4 pentru n = 5. Reprezentarile sunt trasate Tn figura 9. A§a cum rezulti din fisa, procesul indicS o stare de control statistic.

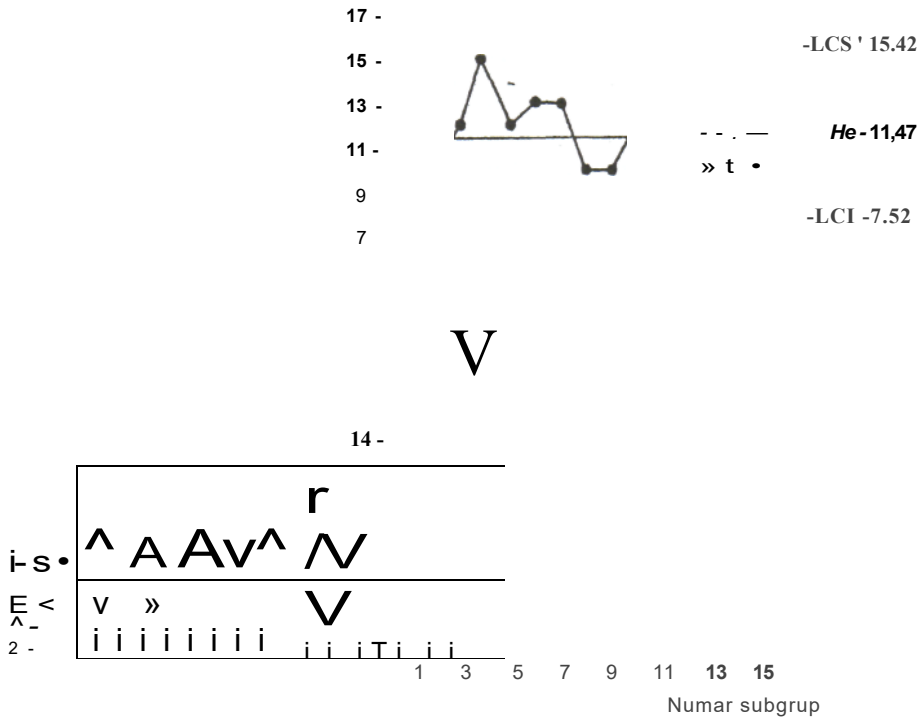


Figura 9 - Fisa **de control pentru** mediana si **amplitudine** corespunzatoare **datelor din tabelul 9**

Tabelul 9 - Datele obtinute la verificarea discurilor de mica"

Numarul subgrupului	Grosimea discurilor					Mediana *Me*	plitudinea *R*
	X^	X_2	X_3	X_4	X_5		
1	14	8	12	12	8	12	6
2	11	10	13	8	10	10	5
3	11	12	16	14	9	12	7
4	16	12	17	15	13	15	5
5	15	12	14	10	7	12	8
6	13	8	15	15	8	13	7
7	14	12	13	10	16	13	6
8	11	10	8	16	10	10	8
9	14	10	12	9	7	10	7
10	12	10	12;	14	10	12	4
11	10	12	8	10	12	10	4
12	10	10	8	8	10	10	2
13	8	12	10	8	10	10	4
14	13	8	11	14	12	12	6
15	7	8	14	13	11	11	7

13 EXEMPLE : FI§E DE CONTROL PRIN ATRIBUTE

13.1 Fi§a p §i fi§a *np :* fard valor! standard date

Datele din tabelul 10 prezinta numa'rul de unitati neconforme pe ora", referitoare la disfunctionalita'tile ga"site la inspec{ia 100% efectuata" asupra unor intrerupatoare mici, cu dispozitive automate de inspec^ie. Intrerupltoarele sunt produse pe o linie de asamblare automata. Deoarece disfunctionalitatea poate avea urmSri serioase, procentui de neconformitati se utilizeaza" pentru a identifica daca" linia de asamblare iese de

sub control. Se pregSteste o fisS p prin colectarea datelor din 25 esantioane ca date preliminare (a se vedea tabelul 10).

Linia central si limitele de control sunt calculate Tn continuare si sunt reprezentate in figura 10. Fisa

p

Linia centrala = p

$$= \frac{8 + 14 + \ldots + 14}{4000 \times 25} = \frac{269}{100000} = 0{,}0027 = 0{,}27\ \%$$

= 0,027 + 3^6,0027(1 - 0,0027) / 4000 = 0,0052 = 0,52 %

$$I = p - 3\sqrt{p(1-p)/n}$$

= 0,0027 - 3^/0,0027(1 - 0,0027) / 4000 = 0,0002 = 0,02 %

Fisa arata starea de control statistic a calitat,ii Tntrerupatoarelor cu toate c3 procentul de neconformita'fl poate fi prea mare. Aceste limite de control se pot utiliza pentru viitoarele subgrupuri p§na in momentul tn care procesul se modiflca sau pan3 cSnd procesul nu mai este sub control statistic. Se observa ca, deoarece procesul este sub control statistic, este putfn probabil ca s3 se poata objine orice imbunatatire f3r3 o schimbare a procesului. Este insuficient a declara pur si simplu "mai multa atent,ie;.

Daca se face o imbunatajire trebuie sa se calculeze diferite limite de control pentru viitoarele subgrupuri, pentru a reflecta modificarea performantelor procesului. Daca procesul se amelioreaza (o valoare p mai mica) se folosesc noile limite, dar dac3 procesul se deterioreaza (o valoare p mai mare) se cauta cauze desemnabile suplimentare.

Se observa ca se poate utiliza de asemenea o fi§a np pentru aceste date, pentru ca toate efectivele esantioanelor sunt egale. Calculele pentru fisa np se prezinta dupa cum urmeaza iar fi§a este reprezentata in figura 1 1 .

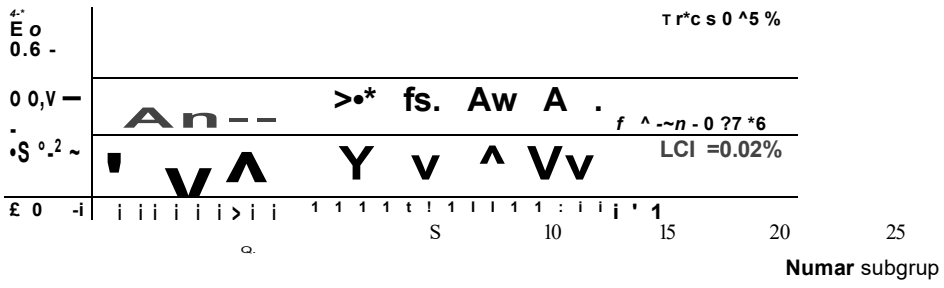


Figura 10 - Fi§a p pentru datele din tabelul 10

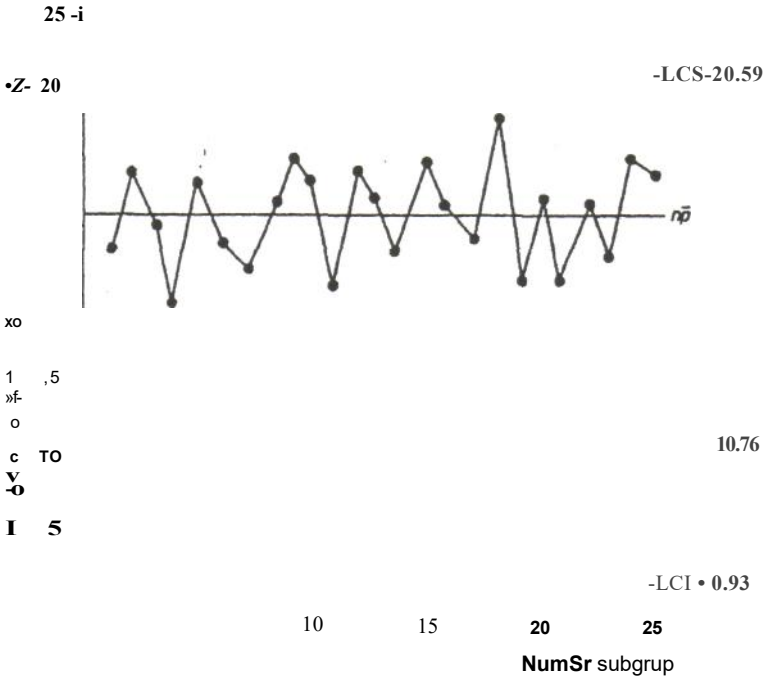


Figura 11 - Fi§a np pentru datele din tabelul 10

Tabelul 10 - Date preliminare: intrerupatoare

Nr. subgrup	NumSrul de Tntrerupatoare inspectate *n*	Numarul de Tntrerupatoare neconforme *np*	Procent de neconformiteSti P
1	4000	8	0,200
2	4000	14	0,350
3	4000	10	0,250
4	4000	4	0,100
5	4000	13	0,325
6	4000	9	0,225
7	4000	7	0,175
8	4000	11	0,275
9	4000	15	0,375
10	4000	13	0,325
11	4000	5	0,125
12	4000	14	0,350
13	4000	12	0,300
14	4000	8	0,200
15	4000	15	0,375
16	4000	11	0,275
17	4000	9	0,225
18	4000	18	0,450
19	4000	6	0,150
20	4000	12	0,300
21	4000	6	0,150
22	4000	12	0,300
23	4000	8	0,200
24	4000	15	0,375
25	4000	14	0,350
Total	100000	269	

Fi§a **np**

Linia central^ = np

$$= \frac{8 + 14+...+14}{25} = 10,76$$

LCS = np +

= 10,76 + 3V10,76(1-0,0027) = 20,59

LCI = **np - 3^/np(1 - p)**

= 10,76 - 3^/10,76(1-0,0027) = 0,93

13.2 Fi§a p : fara valori standard date

fntr-o fabricd producStoare de tranzistori radio, se decide sa se TntocmeascS o fisa pentru procentul de neconformitati, p. Datele se colecteaza si se analizeazS pentru o perioada de o lunS. Din producjia fiecaYei zile se extrage aleatoriu un esantion pentru inspecfle la sfarsitul zilei si se examineazS numarul de unita^i neconforme. Datele sunt cuprinse Tn tabelul 11.

Valorile pentru proprtia de neconformitSji calculate pentru fiecare subgrup, sunt de asemenea prezentate Tn tabelul 11. Proporjia medie de neconformitati Tntr-o luna" se calculeaz3 dupS cum urmeaza" :

$$\frac{\text{'numSrul total de neconformitSti}}{\text{numSrul total de units fi inspectate}}$$

e

$$\frac{233}{3893} = 0,060$$

Deoarece efectivele esantioanelor sunt diferite, valorile LCS si LCI se calculeaza separat pentru fiecare subgrup plecand de la

$$\bar{p} \pm 3\sqrt{\frac{\bar{p}(1-\bar{p})}{n}}$$

unde *n* este efectivul subgrupului .

Aceste valori sunt prezentate de asemenea Tn tabelul 1 1 . Se poate vedea c§ trasarea valoritor LCS si LCI pentru fiecare subgrup este o sarcind de durata. Totusi, se poate observa din tabelul 11 *ca* propor|ia de neconformitati pentru subgrupurile cu numarui 17 si 26 cade Tn afara limitelor de control superioare corespunzStoare . Aceste douS subgrupuri se elimina din date caci, pot *sa* fie afectate de variafii diferite de cele care afecteazS alte subgrupuri. Incluz§ndu-le Tn calcule, rezultS o medie a procesului supraestimatd si limite de control care nu reflects adevSratele variat,ii aleatoare. Cauzele acestor valori man trebuie cSutate astfel ?nc§t *sa* se TntreprindS o acflune corectivS pentru a preveni aparijii viitoare. Se calculeazS o medie revizuita a proportiei de neconformitati plecand de la valorile celor 24 subgrupuri rSmase.

$$\frac{}{3596} = 0,054$$

Calculul valorilor revizuite a LCS si LCI pentru fiecare subgrup, utilizand valoarea revizuita" p, trebuie s5 scoata Tn evident,S *ca* toate proporjiile de neconformitHi sunt Tn interiorul limitelor de control corespunzStoare. De aceea, valoare revizuita pentrup se ia ca proportie de neconformitati standard Tn scopul instalarii fiselor de control. Astfel po = 0,054.

Dupa cum se observS mai sus trasarea mai sus trasarea limitelor de control superioare pentru fiecare subgrup cu efectiv diferit este un procedeu de durata si plictisitor. Totusi, deoarece efectivul subgrupului nu variaza mult fat,3 de efectivul mediu al subgrupului, care este 150, fisa p revizuita (utilizand po = 0,054) poate

fj trasata cu o limits de control superioara bazata pe un efectiv al subgrupuiui de *n* ~ 150, ca efectiv mediu al subgrupului.

Astfel liniile fisei p revizuite se calculeaza dupa cum urmeaza :

Fisa p revizuita

Linia centraia = po = 0,054

LCS=, -Po)

150 a 0.109

***LCI* = p_n -:** -Po)

0,054 x 0,946
150

= 0,054-3 J—

(deoarece nu sunt posibile valori negative, nu se reprezinti limita inferioarS) Fisa p

revizuita este trasata in figura 12. Procesul arata o stare de control statistic.

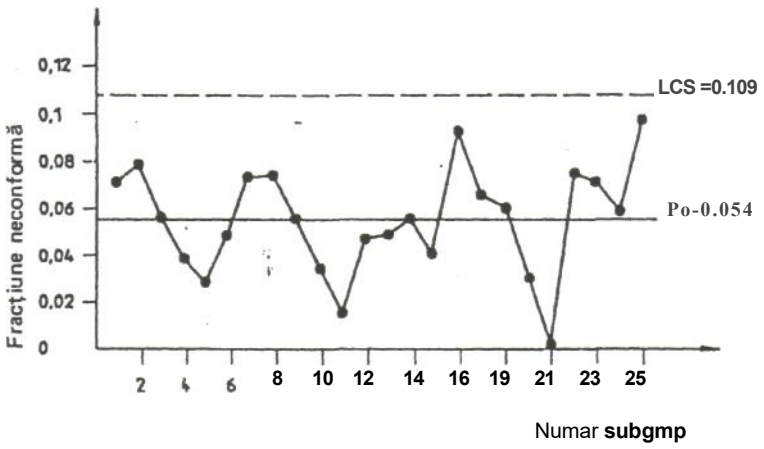


Figura 12 - Fisa p revizuita pentru datele din tabelul 11

Tabelul 11 - Tranzistori radio: fi§a p (date preliminare)

NumSr subgrup	Numa'r inspectat	Numarde neconformita'ti *np*	Fracjiune neconforma *P*	LCS	LCI
1	158	11	0,070	0,117	0,003
2	140	11	0,079	0.120	0,000
3	140	8	0,057	0,120	0,000
4	155	6	0,039	0,1 77^	0,003
5	160	4	0,025	0,116	0,004
6	144	7	0,049	0,119	0,001
7	139	10	0,072	0,120	0,000
8	151	11	0,073	0,118	0,002
9	163	9	0,055	0,116	0,004
10	148	5	0,034	0,119	0,001
11	150	2	0,013	0,118	0,002
12	153	7	0,046	0,118	0.002
13	149	7	0,047	0.118	0,002
14	145	8	0,055	0,119	0,001
15	160	6	0,038	0,116	0,004
16	165	15	0,091	0,115	0,005
17	136	18	0,132	0,121	0,000
18	153	10	0.065	0.118	0.002
19	150	9	0,060	6,118	0,002
20	148	5	0,034	0,119	0,001
21	135	0	.0,000	0,121	0,000
22	165	12	0,073	0,115	0,005
23	143	10	0,070	0,120	0,000
24	138	8	0,058	0,121	0,000
25	144	14	0,097	0,119	0,001
26	161	20	0,124	0,116	0,004
Total	3893	233			

13.3 Fi§a c : fSra valori standard date

Un producator de benzi video doreste sa determine numaYul de puncte neconforme pe o banda video. Benzile video sunt fabricate cu lungimi de 4000 m fiecare. Datele urmatoare prezintS numa'rul de puncte neconforme gasite la examinarea succesiva a suprafetei a 20 bucati de banda, fiecare cu o lungime de 350 m, plecand de la un anumit proces de productie Tn care se examineaza" un anumit capat al benzii.

Pentru a controla acest proces, se decide sa se aplice o fisa *c* trasand numa'rul de puncte neconforme. Datele pentru 20 de buca^i de banda, prezentate Tn tabelul 12, se iau ca date preliminare pentru a pregSti o fi§3 *c.*

Linia centrala si limitele de control se calculeaza mai jos §i sunt reprezentate Tn figura 13.

v

Fisa c

Linia centrals = c = •

20

= ^ = 3 . 4 20

NOTA NATIONALA N6) - Se corecteaza in tabelul 11, valoarea limitei superioare de control LCS corespunzatoare esantionului 4 ; valoarea 0,177 se inlocuieste cu valoarea 0,117.

LCS = c
= 3,4 + 37^4 = 8,

(deoarece nu sunt posibile valori negative, nu se reprezinta limita inferioara)

Datele preliminare arata c3 procesul este ?n stare de control statistic.

13.4 Fi§a *u* : numar de neconformitati pe unitate

Intr-o fabrica de pneuri, se verifica 15 pneuri la fiecare juma'tate de ora si se Inregistreaza numarul total de neconformitati pe unitate. Se decide si se Tntocmeasca o fisa" *u* pentru numarul de neconformitati pe unitate, pentru a studia gradul de stapSnire a! procesului. Datele sunt prezentate In tabelul 13.

Media valorilor *u* se calculeaza cu ajutorul tabelului 13 dupa cum urmeaza.

Se imparte numarul total de neconformitaji (din grupul valorilor *c*) la numarul total de unitafl inspectate (adica14x15):

$$\frac{55}{14x15} = 0,26$$

Fisa u

Linia centraia = *u* = 0,26

$$LCS = \bar{u} + 3\sqrt{\bar{u} / n}$$
= 0,26+3,70,26/15 =0,65

LCI = *u* - 3>/uT/T
= 0,26-370,26/15

(deoarece valorile negative nu sunt posibile, limita inferioara nu se reprezinta)

Datele si liniile de control sunt reprezentate in figura 14.

Fisa arata ca procesul este in stare de control statistic,

Se observa ca, se poate utiliza si o fisa de control *c,* deoarece efectivele subgrupurilor sunt constante.

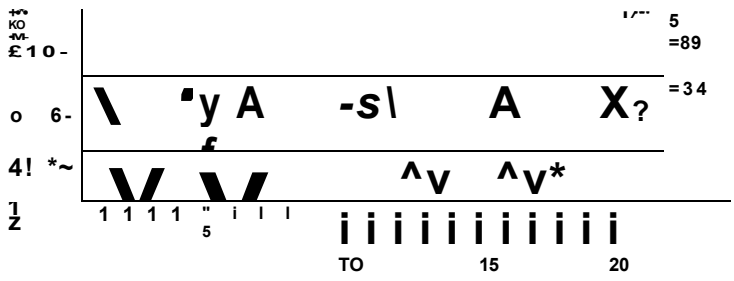


Figura 13 - Fisa c pentru datele date in tabelul 12

Tabelul 12 - Date preliminare: banda video

Mr. bucati	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	Total
puncte ne-conforme	7	1	2	5	0	6	2	0	4	4	6	3	3	3	1	6	3	1	5	6	68

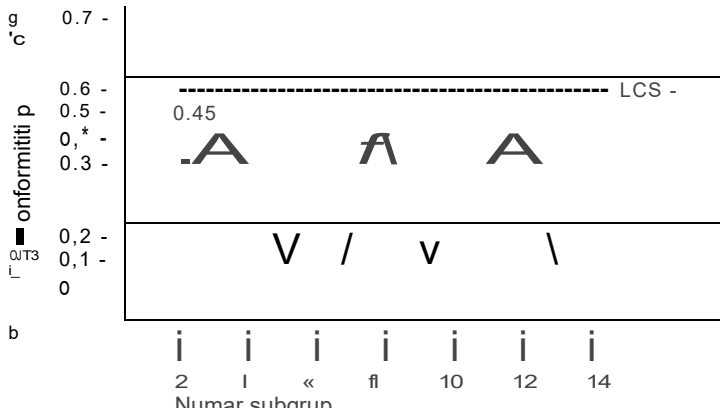


Figura 14 - Fi$a *u* pentru datele din tabelul 13

Tabelul 13 - Fabricarea pneurilor: numar de neconformitati pe unitate (unitati inspectate dintr-un singursubgrup *n* = 15)

Nr. subgrup	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Total
c : Num3r de neconformitati	4	5	3	6	2	1	5	6	2	4	7 •	5	2	3	55
u : Num3r de neconformitati pe unitate	0,27	0,33	0,20	0,40	0,13	0,07	0,33	0,40	0,13	0,27	0,47	0,33	0,13	0,20	

ANEXA A
(Informativa)

BIBLIOGRAFIE

[1] ISO 7870:1993 , *Control charts- General guide and introduction.* [Fi§e de control - Principii generale si prezentare]

[2] ISO 7873:1993 , *Control charts for arrithmetic average with warning limits.* [Fise de control pentru medie aritmetica cu limite de supraveghere]

[3] ISO 7966:1993 , *Acceptance control charts.* [Fise de control pentru acceptare]

[4] SHEWHART, W.A. , *Economic Control of Quality of Manufactured Product.* D. Van Nostrand, Co., New York, 1931, 501pp. [Controlul economic al calitatii produselor prelucrate]

[5] NELSON, L.S., The Shewhart Control Chart - Tests for Special Causes. *Journal of Quality Tehnology,* 16, N0.4, October 1984, pp. 237 - 239. [Fise de control Shewhart - Teste pentru cauze specials.]

[6] NELSON, L.S., Interpreting Shewhart X Control Charts. *Journal of Quality Technology,* 17, No. 2, April 1985, pp. 114-116. [Interpretarea fiselorde control X Shewhart]

Sfarsitul versiunii romane

Membrii Comitetului Tehnic CT 57, "Controlul statistic al calitatii" care au participat la elaborarea prezentului standard:

Pre§edinte:	dl Mircea Tenie	
Secretar:	dl Gabriel Anghel dna	- ROMAN S.A.
Reprezentant IRS:	Delia Gogulescu	
Membri:	dna Mihaela Sarbu dna	- ICTCM
	Maria Jianu dl Viorel	- ICTCM
	Voda	- Centrul de Statistics! al Academiei
	dl Constantin Teodorescu	-ICPE
	dl loan Popescu	- Universitatea Transilvania Bra§ov
	dl Radu Motoiu	Metras S.A.

Un standard roman nu confine neapSrat totalitatea prevederilor necesare pentru contractare. Utilizatorii standardului sunt raspunzatori de aplicarea corecta a acestuia.
Este important ca utilizatorii standardelor romane sa se asigure ca sunt Tn posesia ultimei edifii si a tuturor modificSrilor.
Informape referitoare la standardele romane (termenul de Tncepere a aplicarii, modificarile, etc.) sunt publicate Tn Catalogul standardelor romane si Tn Buletinul Standardizarii.

Modificari dupa publicare

Nr. modificarii	Buletinul Standardizarii Nr./an	Punctele modificate

LEI 68000

LISTA CENTRALIZATOARE A DOCUMENTELOR EXTERNE

Nr. Crt.	Tip document	Denumire document	Cod	Data emiterii
	1	2	3	4
1	Standarde naţionale	Laboratoare medicate Cerinte particulare pentru calitate si competenta	SR EN ISO 15189	2007
2		Ghid pentru implementarea in laboratoare ISO 15189:2003	SR ISO /TR 22869	2005
3		Ghid pentru exprimarea incertitudinii de masurare	SR ENV 13005	2003
4		Sisteme de management al calitatii.Principii fundamentale si vocabular	SR EN ISO 9000	2006
5		Sisteme de management al calitatii cerinte	SR EN ISO 9001	2008
6		Ghid pentru auditarea sistemelor de management al calitatii	SR EN ISO 19011	2003
7		Calculul liniaritatii curbei de etalonare	SR ISO 8466/1	1999
8		Fise de control Shewart	SR ISO 8258+C1	1999
9		Diagrame de control	SR ISO 7870	1999
1	Standarde internaţionale	Conformity assessment-Vocabulary and general principles	ISO/IEC 17011	2002
2		Guide 43-1.Proficiency testing by intelaboratory comparisons		2002
3		Statistics Vocabulary and Symbols	SR 13251	1996

1	Reglementări privind autorizare laborator (OMT şi MO)	Norme privind functionarea laboratoarelor de analize medicale	Ordin 1.301	2007
2		Norme tehnice privind gestionarea deseurilor rezultate din activitatile medicale	Ordin 219	2002

Nr.crt.	Denumirea	Editia/revizia in vigoare	Cod
1	Norme tehnice privind curăţarea, dezinfecţia şi sterilizarea în unităţile sanitare	OMS 261	2007
2	Legea 95 privind reforma în domeniul sănătăţii		10 sept. 2010
3	Ordin 411/14.04.2006		
4	Ordin MS609/12.08.2002		
5			
6			

		Denumire document	Responsabil	Locul de pastrare
1	Documentaţii tehnice	Manualul de operare echipament biochimie		
2				
3				
4				
5				
6				
7				
8				
9				
10				
11				

Data: 01.03.2011

Elaborat:

Responsabilul calităţii

Spitalul Clinic de Boli Infecţioase" Sf.Parascheva„ Iaşi
Laborator de analize medicale.

APROBAT
Manager General

Lista cerinţelor legale

Nr. crt.	Cod document	Denumire document	Data	Observaţii (revizii)
1	SR EN ISO 9001	Sisteme de management al calităţii. CERINŢE	2008	
2	SR EN ISO 9000	Sisteme de management al calităţii. Principii Fundamentale şi Vocabular.	2006	
3	SR EN 45020	Standardizare şi activităţi conexe.VOCABULAR GENEAL	2004	
4	SR EN ISO 10005	Managementul Calităţii.GHID PENTRU PLANURILE CALITĂŢII.	1999	
5	SR ISO/TR 10013	Linii directoare pentru documentaţia sistemului de management al calităţii.	2003	
6	Lege 90/1996	Legea protecţiei muncii	1996	Republic. 2001, mdific. cu L 194/2005
7	NGPM / 2002	Norme Generale de Protecţia Muncii	2002	
8	Lege 53 / 2003	Codul Muncii	2003	Republic.cu modif OUG 65/2005
10	Lege 130/1996R	Lege privind contractul colectiv de munca	1996	
11	Lege 168	Privind solutionarea conflictelor de munca	1999	
12	Lege 306/2004	Legea de exercitare a profesiei de medic	2004	M.OF 578
13	Lege 307/2004	Legea de exercitare a profesiei de asistent medical	2004	M.OF 578
14	Lege 125/2005	Privind salarizarea personalului sanitar		
15	Ordin 721/2005	Regulament de sporuri	2005	M.OF. 668
16	Ordin 386/2004	Normele de aplicare la lege drepturilor pacientului	2004	
17	Ordonanta de urgenta 150	Organizarea si functionarea sistemului de asigurare de sanatate	2002	M.OF.
18	Ordonanta de urgenta 124	Ordonanta privind organizarea si functionarea cabinetelor medicale	1998	M.OF 29.08.1998
19	Ordinul 208	Cu privire la normativele de personal	2003	M.OF 17.03.2003
20	Instructiunile nr.103/1970	Pentru executarea prevederilor Legii nr.73/1969 privind regimul produselor si al substantelor stupefiante		
21	Lege 46/2006	Legea dreptului pacientului	29.01.2003	M.O. 51
22	Lege 212/2004	Asigurarilor private de sanatate	04.06.2004	M.O. 565
23	Lege 95/2006	ORDIN pentru aprobarea regulamentelor de evaluare a furnizorilor de servicii medicale si normele metodologice de evaluare	14.11.2006	MO № 923
24	Lege 629/2001	Aprobarea Ordonantei Guvernului nr.124/1998 privind organizarea si functionarea cabinetelor medicale	13.112001	M.O. 724
25	OUG 23/26.01.2006	Ordin privind modificarea si completarea Ordinului ministrului sanatatii si al presedintelui CNAS nr.56/45/2005 pentru aprobarea Normelor metodologice de aplicare a Contractului – cadru privind conditiile acordarii asistentei medicale in cadrul sistemului de asigurari sociale de sanatate pe anul 2005, cu modificarile si completarile ulterioare.	26.01.2006	M.OF. 75

26	Ordin 37/16.01.2006	Ordin privind tarifele pentru prestatiile efectuate de directiile de sanatate publica judetene si a municipiului Bucuresti si de institutiile de sanatate publica	20.01.2006	M.OF. 54
27	Decizie 56/26.01.2006	Decizie referitoare la exceptia de neconstitutionalitate a dispozitiilor art 51 ali.(2) din OUG a Guvernului nr.150/2002 privind organizarea si functionarea sistemului de asigurari sociale de sanatate.	21.02.2006	M.OF.164
28	Ordonanta 23/26.01.2006	Ordonanta privind cresterile salariale ce se vor acorda in anul 2006 personalului contractual din unitatile sanitare publice din sectorul privat	30.01.2006	M.OF.80
29	Norma 27.01.2006	Norma de aplicare a prevederilor OUG a Guvernului nr.158/2005 privind concediile si indemnizatiile de asigurari sociale de sanatate.	16.02.2006	M.OF.2147
30	Ordin 60/27.01.2006	Ordin pentru aprobarea Normelor de aplicare a prevederilor OUG a Guvernului nr. 158/2005 privind concediile si indemnizatiile de asigurari sociale de sanatate.	16.02.2006	M.OF.147
31	Ordin 71/31.01.2006	Ordin privind modificarea OMS nr.1636/2004 pentru aprobarea Normelor metodologice de aplicare a Legii nr.176/2000 privind dispozitivele medicale, cu modificarile ulterioare, referitoare la 13.02.2006avizarea unitatilor de tehnica medicala.	13.02.2006	M.OF.135
32	Ordin 171/28.02.2006	Ordin privind modificarea si completare OMS nr.721/2005 pentru aprobarea Regulamentului privind acordarea sporurilor la salariile de baza in conformitate cu prevederile art.13 din OUG115/2004, aprobata cu modificari si completari prin Lege 125/2005	03.03.2006	M.OF.200
33	Ordin 233/ 14.13.2006	Ordin pentru aprobarea modelului unic al certificatului de concediu medical si a instructiunilor privind utilizarea si modul de completare a certificatelor de concediu medical pe baza carora se acorda indemnizatii asiguratilor din sistemul asigurarilor socialle de sanatate.	21.03.2006	M.OF.254
34	Hotarare 374/22.03.2006	Hotarare privind prelungirea aplicarii prevederilor HG.nr. 52/2005 pentruaprobarea Contractrului – cadru privind conditiile acordarii asistentei medicale in cadrul sistemului de asigurari sociale de sanatate pe anul 2005 si al HG. Nr. 235/2005 privind aprobarea pentru anul 2005 a listei cuprizand denumirele comune ale medicamentelor din Nomenclatorul medicamentelor de uz uman, de care beneficiaza asiguratii in tratamentul ambulatoriu, cu sau fara contributie personala, pe baza de prescriptie medicala.	29.03.2006	M.OF.285
35	Ordin 274/23.03.2006	Ordin privind inregistrarea dispozitivelor medicale si a producatorilor de dispozitive medicale	291/31.03.2006	M.OF.291

36	Ordin 283/20.03.2006	Ordin privind modificarea si completarea OMS si al presedintelui CNAS nr. 60/32/2006 pentru aprobarea Normelor de aplicare a prevederilor OUG. Nr.158/2005 privind concediile si indemnizatiile de asigurari sociale de sanatate	31.03.2006	M.OF.292
37	Ordin 142/24.03.2006	Ordin privind modificarea si completareaOrdinului presedintelui Casei Nationale de Asigurari de Sanatate nr.221/2005 pentru aprobarea Normelor metodologice privind contributia de asigurari sociale de sanatate	30.03.2006	M.OF.287
38	Ordin 159/11.04.2006	Ordin privind aprobarea Criteriilo de selectie a furnizorilor de servicii medicale paraclinice – laboratoare de analize medicale, precum si a Metodologiei de evaluare a furnizorilor de investigatii medicale paraclinice – analize medicale de laborator.	19.04.2006	M.OF.352
39	Ordin 159/ 11.04.2006	Ordin privind aprobarea Criteriilor de selectie a furnizorilor de investigatii medicale paraclinice – radiologie si imagistica medicala, precum si a metodologiei de evaluare a furnizorilor de investigatii medicale paraclinice – radiologie si imagistica medicala.	19.042006	M.OF.352
40	Ordin 408/12.04.2006	Ordin privind modificarea si completarea OMS si al presedintelui CNAS nr.56/45/2005 pentru aprobarea normelor metodologice de aplicare a Contractului-cadru privind conditiile acordarii asistentei medicale in cadrul sistemului de asigurari sociale de sanatate pentru anul 2006, cu modificarile si completarile ulterioare.	25.04.2006	M. OF.361
41	Decret 418/13.04.2006	Decret pentru promulgarea Legii privind reforma in domeniul sanatatii	02.05.2006	M.OF.372
42	Ordin 412/14.04.2006	Ordin privind aprobarea Criteriilor de selectie a furnizorilor de investigatii medicale paraclinice – radiologie si imagistica medicala, precum si a metodologiei de evaluare a furnizorilor de investigatii medicale paraclinice – radiologie si imagistica medicala	19.04.2006	M.OF.352
43	Hotarare 511/19.04.2006	Hotarare pentru modificarea anexei la HG. Nr. 235/2005 privind aprobarea pentru anul 2005 a listei cuprizind denumirele comune internationale ale medicamentelor de uz uman, de care beneficiaza asiguratii in tratamentul ambulatoriu, cu sa fara prescriptie medicala	21.04.2006	M.OF.360
44	Ordin 437/20.04.2006	Ordin privind prorogarea unor dispozitii din Normele privind autorizarea si functionarea laboratoarelor care efectuiaza analize medicale, aprobate prin OMS nr.119/2004, cu modificari ulterioare.	02.05.2006	M.OF 374
45	Ordin 439/21.04.2006	Ordin privind modificarea si completarea OMS si al presedintelui CNAS nr.412/159/2006 privind aprobarea criteriilor de selectie a furnizorilor de investigatii medicale paraclinice – radiologie si imagistica medicala, precum si a metodologiei de evaluare a furnizorilor de investigatii medicale paraclinice – radiologie si imagistica medicala	02.05.2005	M.OF.374

46	Lege 95/02.05.2006	Lege privind reforma in domeniul sanatatii	02.05.2006	M.OF.372
47	Odin 204/08.05.2006	Ordin privind modificarea Ordinului presedintelui CNAS nr.246/2005 pentru aprobarea utilizarii formularelor unice pe tara, fara regim special, necesare raportarii activitatii furnizorilor de servicii medicale	18.05.2006	M.OF.432
48	Ordin nr. 315	al presedintelui CNAS pentru aprobarea utilizarii formularelor unice pe tara	26.07.2006	
49	Ordin Nr. 845/296	Ordinul ministrului sanatatii publice si al presedintelui Casei Nationale de Asigurari de Sanatate privind **modificarea si completarea Ordinului** ministrului sănătăţii publice si al presedintelui Casei Naţionale de Asigurări de Sănătate nr. 681/243/2006 **pentru aprobarea Normelor metodologice de aplicare a Contractului-cadru** privind condiţiile acordării asistenţei medicale în cadrul sistemului de asigurări sociale de sănătate	26.07.2006	
50	Ordin nr. 268	privind **lista medicamentelor (denumiri comerciale) de care beneficiază asiguraţii în tratamentul ambulatoriu,** cu sau fără contribuţie personală, pe bază de prescripţie medicală, în sistemul de asigurări sociale de sănătate în anul 2006	10.07.2006	
45	Ordinul nr. 681	**Aprobarea** Normelor metodologice de aplicare a Contractului - cadru **privind condiţiile acordării asistenţei medicale în cadrul sistemului de asigurări sociale de sănătate.**	10.07.2006	M.OF 243
46	Ordin Nr. 1211	Pentru aprobarea regulamentelor de organizare si functionare a comisiei nationale, a subcomisiilor nationale si comisiilor de evaluare a furnizorilor de servicii medicale, de dispozitive medicale, de medicamente si materiale sanitare, a standardelor de evaluare, precum si a normelor metodologice pentru evaluarea furnizorilor de servicii medicale, de dispozitive medicale, de medicamente si materiale sanitare	23 10 2006	M.OF 325
47	Legea Nr. 399	Privind concediile si indemnizatiile de asigurari sociale de sanatate	23.010.2006	
48		Răspunderea juridică pentru malpraxis	14.12.2006	M.OF

Nr. crt.	Cod document	Denumire document	Data	Observaţii (revizii)
49	Ordin 578	Pentru aprobarea Listei cuprizand medicamentele de care beneficiaza asiguratii in tratamentul ambulatoriu, cu sau fara contributie personala,	29.12.2006	HG. 1841/2006
50	Ordin nr. 351	Privind aprobarea comisiilor de experti care functioneaza pe langa CNAS si a comisiilor centrale la nivelul CNAS pentru implementarea unor subprograme nationale de sanatate, din cadrul programului national de sanatate cu scop curativ, finantate din Fondul national unic de asigurari sociale de sanatate, precum si pentru alte activitati Emitent: Casa Nationala de Asigurari de Sanatate	5 iunie 2007	
51	Ordin Nr. 994/354 partea 1	Privind aprobarea Normelor metodologice pentru realizarea si raportarea activitatilor specifice din cadrul Programului national privind evaluarea starii de sanatate a populatiei in asistenta medicala primara Emitent: Ministerul Sanatatii Publice Casa Nationale de Asigurari de Sanatate	4 iunie 2007	
52	Ordin Nr. 994/354 partea 2	Privind aprobarea Normelor metodologice pentru realizarea si raportarea activitatilor specifice din cadrul Programului national privind evaluarea starii de sanatate a populatiei in asistenta medicala primara Emitent: Ministerul Sanatatii Publice Casa Nationale de Asigurari de Sanatate Publicata in: Monitorul Oficial Nr. 409 din 19 iunie 2007	4 iunie 2007	
53	Ordin Nr. 448	Privind modificarea si completarea Ordinului presedintelui Casei Nationale de Asigurari de Sanatate nr. 559/2006 pentru aprobarea caracteristicilor tehnice si a modalitatilor de eliberare si utilizare ale cardului european de asigurari sociale de sanatate si pentru aprobarea modelului certificatului provizoriu de inlocuire a cardului european de asigurari sociale de sanatate, precum si a instructiunilor de completare si a modalitatilor de eliberare si utilizare ale acestuia Emitent: Casa Nationala de Asigurari de Sanatate Publicata in: Monitorul Oficial Nr. 427 din 27 iunie 2007	18 iunie 2007	
54	Ordin Nr. 701	Privind aprobarea structurii fisierelor de raportare pentru Anexa nr. 1 si Anexa nr. 2 la Normele de aplicare a prevederilor Ordonantei de urgenta a Guvernului nr. 158/2005 privind concediile si indemnizatiile de asigurari de sanatate, aprobate prin Ordinul ministrului sanatatii publice si al presedintelui CNAS nr. 60/32/2006, cu modificarile si completarile ulterioare Emitent: Casa Nationala de Asigurari de Sanatate	31 august 2007	
55		Ordin pentru aprobarea Normelor tehnice de realizarea a programelor nationale de sanatate in anul 2008		

Nr. crt.	Cod document	Denumire document	Data	Observaţii (revizii)
56	Legea nr. 319	Legea securitatii si sanatatii in munca	14 iulie 2006	M.OF.646
57	Ordinul Nr.219	Ordin al Ministrului Sanatatii si Familiei pentru aprobarea Normelor tehnice privind gestionarea deseurilor rezultate din activitatile medicale si a Metodologiei de culegere a datelor pentru baza nationala de date privind deseurile rezultate din activitatile medicale.	01aprilie 2002	M.OF.386. Modificat: O. nr. 997/ 2004 O.nr. 1029/2004
58	Ordinul nr. 832	Ordin pentru aprobarea formularelor de prescriptie medicala cu regim special pentru medicamente cu si fara contributie personala si a normelor metodologice privind utilizarea si modul de completare a formularelor de prescriptie medicala cu regim special pentru medicamente cu si fara contributie personala.	24 Aprilie 2008	

Data:01.03.2011

Elaborat:
Responsabilul calităţii

Spitalul Clinic de Boli Infecţioase" SF.Parascheva„ Iaşi
Laborator de Analize Medicale.

Lista furnizorilor acceptaţi

Nr. Crt.	Echipament / Reactivi / Servicii	Furnizori	Adresă furnizori /telefon	Observaţii
1	- Cell pack (sysmex) - Stromatolyse 4 DL (sysmex) - Sulfolyser (sysmex) - Stromatolyse 4 DS (sysmex) - Cell clean (sysmex) - Set etalon sange L1,L2,L3, pentru control intern Sysmex -Service analizor hematologic Sysmex 1000i Control Intern	**SC TOP DIAGNOSTICS SRL**	Bucureşti, str. Orlando, nr. 6, sector 1, telefon/fax: 021/3100775, 021/3137291, 021/3137266, Reprezentant zonal: Ing.Sergiu Cazacu telefon:0744709212	
2	- Sânge defibrinat de berbec - Mediu Muller-Hinton cu 5% sânge berbec - Mediu agar bila-esculină - Agar bacteriologic - Bulion selenit acid de sodiu-mediu de bază - Bulion selenit acid de sodiu-sodium biselenite - Mediu cu lizină si martor lizină	**SC SANIMED INTERNATIONAL IMPEX SRL**	Bucureşti, str. Mihail Sebastian, nr. 11, bl. s30, sc. 3, ap. 72, sector 5, telefon/fax 021/4205494, reprezentată prin Hideg Cătălin	
3	- Mediu TSI (triple sugar iron) - Mediu BSA- mediu liofilizat(pulbere) - Seruri monoclonale de grupe sanguine anti AB - Seruri monoclonale de grupe sanguine anti A - Seruri monoclonale de grupe sanguine anti B - Seruri monoclonale de grupe sanguine Rh (anti D - Trusa latex aglutinare pentru identificarea stafilococilor - Trusa latex aglutinare pentru identificarea Rotavirusurilor din materii fecale - Tromboplastina calcica pulbere liofilizata ISI 1,85, cu preţul de 39,6 lei/fl; - Plasme pentru control intern de calitate(coagulare)- normal coag. control plasma - Plasme pentru control intern de calitate(coagulare)- abnormal coag. control plasma - Trusa ASO a 100 teste latex aglutinare(reactivi+2 martori pt control intern de calitate), - Trusa Proteina C reactiva	**SC TODY COMPANY EXIM SRL**	Bucureşti, str. Vadul Moldovei, nr. 22, et. 2, ap. 3, sector 1, telefon 021/2690000, fax 021/2690641, reprezentată prin Valeriu Todiraşcu – director general.	

	(CRP) a 100 teste latex aglutinare(reactiv+2 martori pt control intern de calitate - Trusa RPR reditest a 100 teste latex aglutinare (reactiv+2 martori pt control intern de calitate) - Teste rapide Ag HBs, kit a 25 teste; - Teste rapide Ac anti HCV, kit a 25 teste; - Teste rapide Helycobacter pylori, kit a 25 teste.			
4	- Flacoane Bactalert SA standard aerobic - Flacoane Bactalert FA fan aerobic, - Flacoane Bactalert SN standard anaerobic - Flacoane Bactalert FN fan anaerobic, - Flacoane Bactalert PF fan pediatric, - Galerii Api Id 32 E, cutie a 25 galerii; - Galerii Api Id 32 staph, cutie a 25 galerii; - Galerii Api 32 C, cutie a 25 galerii; - Galerii Api 32 strep, cutie 25 galerii; - Galerii Api 32 GN, cutie a 25 galerii; - Galerii Api NH, cutie a 10 galerii; - Galerii Atb G-5, cutie a 25 galerii; -lotul 150 - Galerii Atb Staph 5, cu preţul de 403 lei/cutie a 25 galerii; -lotul 151 - Galerii Atb Strep 5, cutie a 25 galerii; - Galerii Atb Fungus 2, cutie a 25 galerii; - Galerii Atb NH, cutie a 10 galerii; - reactiv aditional James pentru galerii Api, fiolă a 5ml; - reactiv Fast blue BB pentru galerii Api, fiolă, - reactiv Ninhidrina pentru galerii Api, fiolă; - reactiv Nit 1 pentru galerii Api,fiolă a 5ml, - reactiv Nit 2 pentru galerii Api,	**SC MEDICLIM SRL**	Bucureşti, str. Matei Basarab, nr. 47, etaj 2, sector 3, cod poştal 030671, reprezentată prin Mircea Ciupe – director. Reprezentant zonal:Gabriela Belcic telefon:0745372525	

	fiolă a 5ml, - reactiv VP 1 pentru galerii Api, fiolă a 5ml; - reactiv VP 2 pentru galerii Api, fiolă a 5ml; - reactiv ZYM A pentru galerii Api, fiolă a 5ml; - reactiv ZYM B pentru galerii Api, fiolă a 5ml; - E-Teste Penicilina, benzi; - plicuri amestec reducator pentru creearea anaerobiozei in jar de 2,5 l, - plicuri pentru creearea atmosferei cu CO2 in jar de 2,5 l- Streptococcus pyogenes grup A, ATCC 49399 TM - tulpini de referinta: Salmonella enterica ATCC 51812 TM - tulpini de referinta: Shigella flexner ATCC 12022 TM - tulpini de referinta: Staphylococcus aureus ATCC 25923, - tulpini de referinta: Escherichia coli ATCC 25922 - tulpini de referinta: Pseudomo-nas aeruginosa ATCC 27853 TM - tulpini de referinta: Streptococcus pneumoniae ATCC 49619 - tulpini de referinta: Enterococcus faecalis ATCC 29212 - tulpini de referinta:Yersinia enterocolitica ATCC 9610 - tulpini de referinta: Campylobacter jejuni ATCC 33291 - tulpini de referinta:Candida albicans ATCC 10231 - Service incubator Bactalert şi Sistem de identificare şi antibiogramă automată Api (pipetă electronică şi densimat)			
5	- Mediu Agar bază Columbia, - Mediu Agar citrat Simons - kit Citomegalovirus IgM a 96 teste x 2/kit (ELISA),	**SC CLINILAB SRL**	Târgu-Mureş, str. Rodnei, nr. 15, telefon 0265/218784, 0265/218785, fax 0265/218785, reprezentată prin ing. Jakab Stefan	

6	- Mediu agar Columbia cu 5% sânge de berbec - Mediu agar Saburaud fără cloramfenicol - Mediu Uriselect 4 - Mediu Neisseria agar base (G.C. selective medium - Supplement G pt. mediu Neisseria agar base - VCF selective supplement (250ml/sqf) pt. mediu Neisseria agar base - Mediu Hektoen enteric agar - Trusa latex aglutinare pentru diagnosticul meningitelor, a 25 teste; - Trusă identificare Neisseria 4H, cu preţul de 325 lei/trusă a 10 teste; - Ser polyvalent anti Salmonella OMNI O A-60 - Ser polyvalent anti Salmonella-mixture OMA - Ser polyvalent anti Salmonella-mixture OMB - Ser monovalent anti Salmonella O:4,5 - Ser monovalent anti Salmonella O:9 - Ser monovalent anti Salmonella O:6,7,8, - Ser monovalent anti Salmonella O:3,10,15 - Ser monovalent anti Salmonella H:i - Ser monovalent anti Salmonella H:gm - Ser monovalent anti Salmonella H:d - Ser monovalent anti Salmonella H:r - Ser monovalent anti Salmonella H:a - Ser monovalent anti Salmonella H:b - Ser monovalent anti Salmonella H:c - Ser monovalent anti Salmonella Vi, - Ser nonavalent anti E. coli enteropatogen - Ser E. coli trivalent 1 (0111+055+026) - Ser E. coli trivalent 2 (086+0119+0127	**SC A&A DIALAB SRL**	Bucureşti, sector 4, str. Săvineşti, nr. 2, reprezentată prin Marius Nicolae – administrator. Reprezentant zonal: Manuela Ichim telefon: 0722657643	

	- Ser E. coli trivalent 3 (0125+0126+0128 - Ser E. coli trivalent 4 (0114+0124+0142 - Ser polyvalent anti Shigella flexneri - Ser polyvalent anti Shigella sonnei - Ser monovalent anti Yersinia enterocolitica O:3 - Kit Antigen HBs a 96 x 2 / kit (ELISA) - Kit Anticorpi anti-HCV a 96 x 2/kit (ELISA - Kit Quantiferon-TB gold - metoda ELISA in tubi			
7	- Acid acetic glacial p.a, - Acid acetic glacial - Clorura de sodiu pa(bil) - Cafeina p.a. (bil) - Acetat de sodiu anhidru (bil) - Acid tricloracetic - Sulfat de sodiu anhidru - Ulei de parafina, - Clorura de sodiu p.a. - Acetona p.a – Perhidrol - Xilol p.a - Hidroxid de sodiu p.a - Uree p.a. - Iod metalic - Iodura de potasiu	**SC BIOCHEMICALS SRL**	Str. Maramureşului, nr. 34, judeţul Cluj; telefon/fax: 0264/403.067, reprezentată prin Chichişan Dumitru administrator	
8	- Acid sulfuric p.a. - Alcool metilic p.a - Alcool etilic 96˚ p.a - Alcool etilic p.a - Alcool etilic absolut - Lame slefuite port obiect - Azotat de argint - Cromat de potasiu - Acid sulfanilic - Acid clorhidric - Ulei de cedru - Acid clorhidric MERCK - Hârtie Ph (4-10) - solutie Giemsa MERCK - solutie May-Grunwald - Lame microscop 24/24	**SC TUNIC PROD SRL**	Bucureşti, calea Călăraşilor, nr. 139, sector 3, telefon 021/3275078, fax 021/3225672, reprezentată prin ing. Florin Tuliciu – director general.	
9	- Glucoza Daytona 3815 - Creatinina Daytona, - Magneziu-Daytona - TGO-Daytona - TGP-Daytona - Fosfataza alcalina-Daytona - GGT-Daytona	**SC PRAXIS MEDICA SRL**	Iaşi, str. Rufeni, nr. 8a, telefon 0232/235.994, 0232/206.030, fax 0232/235.994, reprezentată prin Hristodorescu Cristina	

	- Uree-Daytona 3825 - Amilaza-Daytona - Colesterol Daytona - Trigliceride-Daytona - Acid uric--Daytona - HDL-COL Daytona - LDL-COL Daytona - Fier-Daytona - Calciu-Daytona - Glucoza 2x50 (manual - Solutie spalare 1 Daytona - Solutie spalare 2 Daytona - Solutie spalare 3 Daytona - Solutie spalare C1 Daytona - Calibrator Daytona - Calibrator lipide Daytona - Control lipide nivel normal Daytona - Control lipide nivel patologic Daytona - Control normal (2) Daytona - Control patologic (3) - Solutie salina Daytona - Solutie acida Daytona - Membrana osmoza inversa - Filtru de carbune activat 5 - Cartus cu rasina schimbatoare de ioni - CO2 total R1 (Daytona - Bilirubina totala Daytona - Bilirubina directa Daytona Service analizor biochimie Daytona si TKA			
10	- Teste de sanitatie: BD DIFCO HYCHECK TM for desinfection control - FACS COUNT REAGENT kit, - FACS FLOW 20 litri - FACS COUNT CONTROLS,	**SC NOVAINTERMED SRL**	Bucureşti, str. Ceaikovski, nr. 7, sector 2 (adresă punct de lucru: judeţul Ilfov, str. Drumul potcoavei, nr. 5a, reprezentată prin dr. Maria Iosif	
11	- CAP-G/CTM HCM (42 teste), - CAP-G/CTM HBV (72 teste), - TUBE K BOX (12x96 - TUBE S BOX (12x24 - SPU (12x24 - TIP K 1,2 mm (12x36) - CAP-G/CTM WASH REA-GENT 5,1 litri - Hartie termica AVL 9180 - Snap pack - Solutie cleaning AVL 9180 - Solutie electrode AVL 9180 - Electrode Na AVL 9180 - Electrode K AVL 9180 - Electrode Cl AVL 9180	**SC ROCHE ROMÂNIA SRL**	Bucureşti, str. Presei libere, nr. 3-5, clădirea City Gate, turnul de sud, etajele 4a, 5 şi 6, sector 1, telefon: 021/2064701, fax 0372/177930, reprezentată prin Herald Wolf, în funcţia de country manager românia, şi Paula Aguiar, în funcţia de head of finance&logistics.	

	- Combur test Urysis 1100 cutie a 100 teste; - Hartie termica Urysis 5,8 - Calibrator Combur test - CAP-G/CTM HIV 1-V 2.0			
	PRESTĂRI SERVICII			
1	Vânzare-cumpărare a energiei electrice	**E.ON MOLDOVA FURNIZARE SA**	Bacău, judeţul Bacău Str. Ştefan cel Mare nr. 22, cod poştal 600359, telefon:0234/205702, fax:0234/205704, reprezentant legal Dan Morari-Director General şi Silvia Cristina Macedon-	
2	Prestări servicii salubritate	**S.C.SALUBRIS S.A.**	Iaşi, Şos. Nicolina nr. 43, telefon:0232/276244 fax: 0232/266463,e-mail:office@salubris.ro , reprezentant legal Ing. Ion Apostol-Director General	
3	Prestări servicii de colectare, transport şi incinerare a deşeurilor infecţioase şi înţepătoare tăietoare	**S.C. ECO SERV S.R.L. IAŞI**	Iaşi, Str. Tudor Neculai nr. 9 Jud. Iaşi, telefon/fax: 0232/214443 reprezentat prin Daniel Avătăjiţei	
4	Furnizare/prestare a serviciului de alimentare cu apă şi de canalizare	**S.C. APAVITAL S.A.**	Iaşi, str. Mihai Costăchescu nr. 6 Judeţul Iaşi Telefoane centrală: 0232-215.410, 215.411, 215.412, 215.413 Telefon call center: 0800.808.969 sau 0232 - 969 Fax : 0232.212.741 E-mail : contact@apavital.Ro reprezentat prin Dr.Ing. Ion Toma	
5	Prestări servicii SIUI (Aplicaţia Hospital Manager Suite)	**S.C. INFO WORLD S.R.L.**	Intrarea Glucozei nr. 37-39, sector 2, 023828 Bucuresti, România telefon: +40212430590 fax: +4021243 0578 email: info@infoworld.ro reprezentanţă Iaşi str. Gării nr. 22**,** 700091, Iasi, telefon: +40 232 206 202,fax: +40 232 206 202	
6	Asistenţă tehnică şi service IT		Iaşi, Şos Păcurari nr.67,	

		S.C. PACIFIC NET S.R.L.	cod postal: 700544 telefon: 0746263580 reprezentant legal:Cristian Manea	

7	Furnizare/prestare a serviciului de alimentare cu gaz metan	**E.ON ENERGIE ROMÂNIA**	Târgu –Mureş, Str. Justiţiei nr.12 cod 540069, reprezentant legal: Dan Morari	
8	Furnizare a servicii de telefonie fixă	**S.C. ROMTELECOM S.A.**	Bucureşti, Piaţa Presei Libere nr. 3-5, clădirea City Gate, etajele 7-18 din Turnul de Nord, sector 1, cod poştal:013702, telefon:0800880800, fax:0232.204300, reprezentant legal: Sorin Constantinescu	
9	Furnizare/prestare servicii poştale	**COMPANIA NAŢIONALĂ POŞTA ROMÂNĂ SA**	Bucureşti, B-dul Dacia Nr 140 sector 2, telefon: +40-(0)2007.303, fax+40-(0)2007.470, reprezentant legal: Dumitru Daniel	
10	Servicii de furnizare energie termică	**SPITAL CLINIC JUDEŢEAN DE URGENŢĂ SF. SPIRIDON IAŞI**	Iaşi, B-dul Independenţei nr.1,CP 6600, tel/fax:218864, reprezentant legal: Ec.Ioan Bârliba –Manager şi Ec. Mariana Loghin-Director Financiar contabil	
11	Servicii de comunicaţii internet	**UPC ROMÂNIA**	Bucureşti, Şos. Nordului 62 D, 014104, sector 1, telefon:+40311000405, fax: +40311000165, reprezentanţă Iaşi: Bv. Carol I, nr.5, telefon:0740106635, fax:-, E-mail: mihai.tofan@upc.ro, reprezentant zonal:Mihai Tofan	
12	Controale Externe			

Data:01.03.2011

Elaborat
Şef Laborator

Linie completa de electroforeza ??????? Seria ??????

incertitudine electroforeza

Level 1 Lot 14181, exp. 30.09.2011

DATA	Albumine	α1 globuline	α2 globuline	β-globuline	γ-globuline
1	62.2	2.8	9.2	12.4	13.5
2	66.3	2.5	7.5	11.6	12.1
3	63.4	2.2	9.1	12.2	13.1
4	65.3	2.5	8.2	9.8	14.2
5	62.2	2.8	9.2	12.4	13.5
6	66.3	2.5	7.5	11.6	12.1
7	63.4	2.2	9.1	12.2	13.1
8	65.3	2.5	8.2	9.8	14.2
average-Media	**64.3**	**2.5**	**8.5**	**11.5**	**13.2**
SD	1.7088	0.2268	0.7445	1.0954	0.8120
Cv	2.6575	9.0711	8.7589	9.5256	6.1396
UA	**1.7088**	**0.2268**	**0.7445**	**1.0954**	**0.8120**
Incertitudine etalonare	0	0	0	0	0
UBetal	0	0	0	0	0
Domeniu	55.8-68.2	2.66-3.85	6.68-10.9	9.3-15.2	10.6-17.2
Val tinta	62	3.11	8.79	12.2	13.9
a- limita inf	55.8	2.66	6.7	9.3	10.6
a+limita sup	68.2	3.85	10.9	15.2	17.2
a+-a- Interval	12.4	1.2	4.2	5.9	6.6
Ubref- 12 RECTA	**3.5796**	**0.3435**	**1.2182**	**1.7032**	**1.9053**
suma patrate 2	15.7333	0.1694	2.0383	4.1008	4.2893
UC 2	**3.9665**	**0.4116**	**1.4277**	**2.0251**	**2.0711**
UE 2	**7.9331**	**0.8233**	**2.8554**	**4.0501**	**4.1421**
BIAS%	3.7097	-19.6141	-3.2992	-5.7377	-4.8561

Responsabil Analiza Sef Laborator

incertitudine electroforeza

Linie completa de electroforeza ??????? Seria ??????

Level 2 Lot 14182, exp. 30.09.2011

DATA	Albumine	α1 globuline	α2 globuline	β-globuline	γ-globuline
1	62.2	3.1	8.3	10.8	15.6
2	65.2	2.6	7.8	11.0	13.3
3	65.8	2.4	8.0	9.2	14.6
4	66.6	2.4	7.8	10.2	12.9
5	62.2	3.1	8.3	10.8	15.6
6	65.2	2.6	7.8	11.0	13.3
7	65.8	2.4	8.0	9.2	14.6
8	66.6	2.4	7.8	10.2	12.9
average-Media	**65.0**	**2.6**	**8.0**	**10.3**	**14.1**
SD	1.7784	0.3059	0.2188	0.7483	1.1439
Cv	2.7382	11.6531	2.7431	7.2654	8.1130
UA	**1.7784**	**0.3059**	**0.2188**	**0.7483**	**1.1439**
Incertitudine etalonare	0	0	0	0	0
UBetal	0	0	0	0	0
Domeniu	57.9-70.8	2.07-3.37	6.13-10	8.05-13.1	10.9-17.7
Val tinta	64.3	2.72	8.06	10.6	14.3
a- limita inf	57.9	2.07	6.1	8.1	10.9
a+limita sup	70.8	3.37	10.0	13.1	17.7
a+-a- Interval	12.9	1.3	3.9	5.1	6.8
Ubref- 12 RECT	**3.7239**	**0.3753**	**1.1172**	**1.4578**	**1.9630**
suma patrate 2	17.0304	0.2344	1.2959	2.6852	5.1619
UC 2	**4.1268**	**0.4842**	**1.1384**	**1.6387**	**2.2720**
UE 2	**8.2536**	**0.9683**	**2.2768**	**3.2773**	**4.5440**
BIAS%	1.0109	-3.4926	-1.0546	-2.8302	-1.3986

Responsabil Analiza Sef Laborator

Linie completa de electroforeza ??????? Seria ??????

dil 1/8 normal (level1)Lot 14181, exp. 30.09.2011

DATA	Albumine	α1 globuline	α2 globuline	β-globuline	γ-globuline
1	82.9	2.5	5.1	5.9	3.7
2	83.0	1.7	4.8	5.7	4.8
3	80.5	2.3	5.6	6.9	4.7
4	81.4	2.5	5.7	5.3	5.1
5	84.3	1.8	4.6	4.0	5.3
6	82.9	2.5	5.1	5.9	3.7
7	83.0	1.7	4.8	5.7	4.8
8	80.5	2.3	5.6	6.9	4.7
average-Medi	**82.3**	**2.2**	**5.2**	**5.8**	**4.6**
SD	1.3622	0.3662	0.4241	0.9219	0.5928
Cv	1.6549	16.9344	8.2141	15.9284	12.8873
UA	**1.3622**	**0.3662**	**0.4241**	**0.9219**	**0.5928**
Incertitudine etalonare	0	0	0	0	0
UBetal	0	0	0	0	0
Domeniu	55.8-68.2	2.66-3.85	6.68-10.9	9.3-15.2	10.6-17.2
Val tinta	62	3.11	8.79	12.2	13.9
a- limita inf	55.8	2.66	6.7	9.3	10.6
a+limita sup	68.2	3.85	10.9	15.2	17.2
a+-a- Interva	12.4	1.2	4.2	5.9	6.6
Ubref- 12 RE	**3.5796**	**0.3435**	**1.2182**	**1.7032**	**1.9053**
suma patrate	14.6689	0.2521	1.6639	3.7507	3.9814
UC 2	**3.8300**	**0.5021**	**1.2899**	**1.9367**	**1.9954**
UE 2	**7.6600**	**1.0042**	**2.5798**	**3.8733**	**3.9907**
BIAS%	32.7621	-30.4662	-41.2685	-52.5615	-66.9065

Responsabil Analiza Sef Laborator

Linie completa de electroforeza ??????Seria

reproductibilitate electroforeza
Level 1 Lot 14181, exp. 30.09.2011

DATA	Albumine	α1 globuline	α2 globuline	β-globuline	γ-globuline
05.01.2010	65.4	2.9	8.1	10.8	12.8
08.01.2010	66.3	3.5	7.2	11.1	11.9
11.01.2010	65.4	2.7	8.9	9.6	13.4
15.01.2010	63.3	2.5	7.8	12.3	14.1
19.01.2010	62.2	2.8	9.2	12.4	13.5
22.01.2010	66.3	2.5	7.5	11.6	12.1
25.01.2010	63.4	2.2	9.1	12.2	13.1
29.01.2010	65.3	2.5	8.2	9.8	14.2
average-Media	**64.7**	**2.7**	**8.3**	**11.2**	**13.1**
SD	1.5288	0.3891	0.7502	1.1016	0.8434
Cv	2.3629	14.4125	9.0938	9.8140	6.4195
UA	**1.5288**	**0.3891**	**0.7502**	**1.1016**	**0.8434**
Incertitudine etalonare	0	0	0	0	0
UBetal	0	0	0	0	0
Domeniu	55.8-68.2	2.66-3.85	6.68-10.9	9.3-15.2	10.6-17.2
Val tinta	62	3.11	8.79	12.2	13.9
a- limita inf	55.8	2.66	6.7	9.3	10.6
a+limita sup	68.2	3.85	10.9	15.2	17.2
a+-a- Interval	12.4	1.19	4.22	5.9	6.6
Ubref- 12 REC	**3.5796**	**0.3435**	**1.2182**	**1.7032**	**1.9053**
suma patrate	15.1505	0.2694	2.0469	4.1144	4.3413
UC 2	**3.8924**	**0.5191**	**1.4307**	**2.0284**	**2.0836**
UE 2	**7.7847**	**1.0381**	**2.8614**	**4.0568**	**4.1671**
BIAS%	4.3548	-13.1833	-6.1433	-7.9918	-5.4856

Responsabil Analiza Sef Laborator

reproductibilitate electroforeza

Linie completa de electroforeza ??????Seria

Level 2 Lot 14182, exp. 30.09.2011

DATA	Albumine	α1 globuline	α2 globulin	β-globuline	γ-globuline
05.01.2010	65.9	2.4	8.1	9.6	13.9
08.01.2010	65.8	2.4	8.0	9.2	14.6
11.01.2010	66.6	2.6	7.5	10.2	12.9
15.01.2010	64.5	2.5	8.5	11.1	13.4
19.01.2010	62.2	3.1	8.3	10.8	15.6
22.01.2010	65.2	2.6	7.8	11.0	13.3
25.01.2010	65.8	2.4	8.0	9.2	14.6
29.01.2010	66.6	2.4	7.8	10.2	12.9
average-Media	**65.3**	**2.6**	**8.0**	**10.2**	**13.9**
SD	1.4390	0.2390	0.3117	0.7708	0.9621
Cv	2.2028	9.3743	3.8960	7.5846	6.9219
UA	**1.4390**	**0.2390**	**0.3117**	**0.7708**	**0.9621**
Incertitudine etalonare	0	0	0	0	0
UBetal	0	0	0	0	0
Domeniu	57.9-70.8	2.07-3.37	6.13-10	8.05-13.1	10.9-17.7
Val tinta	64.3	2.72	8.06	10.6	14.3
a- limita inf	57.9	2.07	6.1	8.1	10.9
a+limita sup	70.8	3.37	10.0	13.1	17.7
a+-a- interval	12.9	1.3	3.87	5.05	6.8
Ubref- 12 RECTAN	**3.7239**	**0.3753**	**1.1172**	**1.4578**	**1.9630**
suma patrate 2	15.9382	0.1980	1.3452	2.7193	4.7790
UC 2	**3.9923**	**0.4449**	**1.1598**	**1.6490**	**2.1861**
UE 2	**7.9845**	**0.8899**	**2.3197**	**3.2981**	**4.3722**
BIAS%	1.5941	-6.2500	-0.7444	-4.1274	-2.7972
BIAS%	1.594	-6.250	-0.744	-4.127	-2.797

Responsabil Analiza Sef Laborator

SC ????????? SRL
Echipament: Analizor auton

Hematologie Nivel Low (Bas)
Lot ?????? Exp. ????

Proba	**HGB g/dl**	**WBC**x10E9/L	**RBC**x10E12/L	**HCT %**	**MCV** fL	**MCH** pg	**MCHC** g/dl
1	5.7	2.10	2.22	15.9	72.0	25.6	35.8
2	5.9	2.10	2.21	16.0	72.0	26.5	36.7
3	5.7	2.09	2.22	15.7	73.0	24.5	35.6
4	5.9	2.16	2.28	17.1	71.0	26.5	36.5
5	5.7	2.00	2.28	17.1	71.0	25.4	36.4
6	6.1	2.05	2.26	16.9	72.0	25.1	36.3
7	5.9	2.05	2.29	17.2	73.0	25.7	36.1
8	5.7	2.38	2.28	16.9	68.0	26.4	36.4
9	5.8	2.10	2.33	17.5	69.0	26.9	35.9
10	5.7	2.32	2.22	16.7	72	25.2	36.5
average-Media	**5.81**	**2.14**	**2.26**	**16.7**	**71.3**	**25.78**	**36.22**
stdev	0.1370	0.1217	0.0398	0.6164	1.6364	0.7671	0.3553
Cv	2.3586	5.6992	1.7639	3.6913	2.2951	2.9756	0.9809
UA	**0.137**	**0.122**	**0.040**	**0.616**	**1.636**	**0.767**	**0.355**
Incertitudine etalonare							
Ubetal	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**
Domeniu	5,3-6,1	1,6-2,4	2,11-2,41	13,8-17,8	66-74	23,2-27,2	33-39
Val tinta	5.7	2	2.26	15.8	70	25.2	36
a- limita inf	5.3	1.6	2.11	13.8	66	23.2	33
a+limita sup	6.1	2.4	2.41	17.8	74	27.2	39
a+-a- Interval	**0.8**	**0.8**	**0.3**	**4.0**	**8.0**	**4.0**	**6.0**
UBref	**0.2309**	**0.2309**	**0.0866**	**1.1547**	**2.3094**	**1.1547**	**1.7321**
suma patrate	33.809	4.612	5.111	280.223	5089.023	665.942	1314.888
UC	**5.8146**	**2.1475**	**2.2607**	**16.7399**	**71.3374**	**25.8058**	**36.2614**
UE	**11.6292**	**4.2949**	**4.5213**	**33.4797**	**142.6748**	**51.6117**	**72.5228**
BIAS%	1.9298	6.7500	-0.0442	5.6962	1.8571	2.3016	0.6111

nat de hematologie ????'

PLTx10E9/L	**RDW-%**
73.0	17.4
73.0	13.6
73.0	14.3
79.0	18.2
71.0	12.9
68.0	13.1
73.0	14.3
74.0	18.5
72.0	12.4
72	16.3
72.8	**15.1**
2.7406	2.2988
3.7646	15.2238
2.741	**2.299**
0	**0**
52-92	11,9-17,9
72	14.9
52	11.9
92	17.9
40.0	**6.0**
11.5470	**1.7321**
5433.173	231.010
73.7101	**15.1990**
147.4201	**30.3980**
1.1111	1.3423

SC ????????? SRL
Echipament: Analizor automat de he

Hematologie Nivel Low (Bas)
Lot ?????? Exp. ????

Proba	**HGB** g/dl	**WBC**x10E9/L	**RBC**x10E12/L	**HCT** %	**MCV** fL	**MCH** pg	**MCHC** g/dl	**PLT**x10E9/L
1	13.6	7.80	4.48	38.6	79.0	30.4	35.3	226
2	13.4	7.70	4.49	37.5	84.0	30.6	35.9	229
3	13.4	7.60	4.46	37.5	83.0	30.6	35.8	224
4	13.5	7.60	4.49	37.7	86.0	30.7	35.8	237
5	13.5	7.60	4.51	37.8	85.0	30.6	35.7	248
6	14.7	8.30	4.69	38.2	79.0	30.1	35.1	230
7	13.5	7.60	4.79	38.4	82.0	30.3	35.2	247
8	13.4	7.7	4.72	38.1	81.0	30.1	35.2	237
9	13.5	7.9	4.69	37.8	84.0	30.6	35.8	249
10	13.3	7.6	4.74	37.9	80.0	30	35.1	238
average-Media	**13.58**	**7.74**	**4.606**	**37.95**	**82.3**	**30.4**	**35.49**	**236.5**
stdev	0.4022	0.2221	0.1301	0.3689	2.4967	0.2582	0.3348	9.2286
Cv	2.9618	2.8697	2.8237	0.9722	3.0336	0.8493	0.9434	3.9021
UA	**0.402**	**0.222**	**0.130**	**0.369**	**2.497**	**0.258**	**0.335**	**9.229**
Incertitudine etalonare								
UBet	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**
Domeniu	13,2-14,2	6,7-8,3	4,45-4,81	35-40	77-85	27.6-31.6	33,5-39,5	210-290
Val tinta	13.7	7.5	4.63	37.5	81	29.6	36.5	250
a- limita inf	13.2	6.7	4.45	35	77	27.6	33.5	210
a+limita sup	14.2	**8.3**	**4.81**	**40**	**85**	**31.6**	**39.5**	**290**
a+-a- Interval	**1.0**	**1.6**	**0.4**	**5.0**	**8.0**	**4.0**	**6.0**	**80.0**
UBRef	**0.2887**	**0.4619**	**0.1039**	**1.4434**	**2.3094**	**1.1547**	**1.7321**	**23.0940**
suma patrate	184.500	60.121	21.226	1442.286	6778.623	925.493	1262.540	56465.583
UC	**13.5831**	**7.7538**	**4.6072**	**37.9774**	**82.3324**	**30.4219**	**35.5322**	**237.6249**
UE	**27.1661**	**15.5075**	**9.2143**	**75.9549**	**164.6648**	**60.8438**	**71.0645**	**475.2498**
BIAS%	-0.8759	3.2000	-0.5184	1.2000	1.6049	2.7027	-2.7671	-5.4000

matologie ?????????

RDW-%	**MPV** fL
12.1	8.8
12.1	8.7
11.9	8.8
12.1	8.7
12.0	8.8
11.5	8.7
11.9	8.8
11.9	8
11.7	8.8
12.1	8.8
11.93	**8.69**
0.2003	0.2470
1.6788	2.8421
0.200	**0.247**
0	**0**
10,3-16,3	5,9-11,9
13.3	8.9
10.3	5.9
16.3	**11.9**
6.0	**6.0**
1.7321	**1.7321**
145.325	78.516
12.0551	**8.8609**
24.1102	**17.7219**
-10.3008	-2.3596

SC ????????? SRL
Echipament: Analizor aut

Hematologie Nivel Low (Bas)
Lot ?????? Exp. ????

Proba	**HGB g/dl**	**WBC**x10E9/L	**RBC**x10E12/L	**HCT %**	**MCV** fL	**MCH** pg	**MCHC** g/dl
1	17.70	21.40	5.45	50.1	85.0	32.6	35.4
2	17.90	21.80	5.46	50.1	89.0	32.8	35.7
3	17.60	21.10	5.41	49.7	87.0	32.6	35.5
4	17.80	21.20	5.45	50.6	86.0	32.6	35.1
5	17.70	21.30	5.42	50.1	90.0	32.7	35.4
6	17.70	20.90	5.49	50.6	87.0	32.3	35.0
7	18.10	20.10	5.57	51.3	84.0	32.5	35.3
8	17.80	21.90	5.44	50.2	85.0	32.6	35.4
9	18.40	21.50	5.67	51.5	87.0	32.4	35.0
10	17.60	20.80	5.41	49.9	88.0	32.6	35.4
average-Media	**17.83**	**21.20**	**5.48**	**50.4**	**86.8**	**32.6**	**35.3**
stdev	0.2497	0.5228	0.0826	0.5915	1.8738	0.1418	0.2251
Cv	1.4003	2.4661	1.5082	1.1734	2.1588	0.4354	0.6373
UA	**0.2497**	**0.5228**	**0.0826**	**0.5915**	**1.8738**	**0.1418**	**0.2251**
Incertitudine etalonare	0	0	0	0	0	0	0
UBetal	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**
Domeniu	17.2-18.4	19,1-22,3	5,43-5,83	47-52	83-91	29,6-33,6	33,3-39,3
Val tinta	17.8	20.7	5.63	49	87	31.6	36.3
a- limita inf	17.2	19.1	5.43	47	83	29.6	33.3
a+limita sup	18.4	**22.3**	**5.83**	**52**	**91**	**33.6**	**39.3**
a+-a- Interval	**1.2**	**3.2**	**0.4**	**5.0**	**8.0**	**4.0**	**6.0**
UBref	**0.3464**	**9.1058**	**2.3806**	**21.2332**	**37.1580**	**13.7199**	**16.0474**
suma patrate	318.029	532.355	35.665	2992.015	8914.959	1249.040	1505.020
UC	**17.8334**	**23.0728**	**5.9720**	**54.6993**	**94.4191**	**35.3418**	**38.7946**
UE	**35.6667**	**46.1456**	**11.9440**	**109.3986**	**188.8381**	**70.6835**	**77.5892**
BIAS%	0.1685	2.4155	-2.7176	2.8776	-0.2299	3.0696	-2.6997

:omat de hema

PLTx10E9/L
468.0
469.0
547.0
460.0
472.0
550.0
469.0
475.0
473.0
472.0
485.5
33.4573
6.8913
33.4573
0
0
465-555
510
465
555
90.0
226.6231
287068.285
535.7875
1071.5751
-4.8039

SC ??????
Echipament

Hematologie Nivel Low (Bas)
Lot ?????? Exp. ????

Data	WBC	RBC	HGB	PLT	HCT	MCV
06,04,2010	2.1	2.23	5.7	65	15.9	72
07,04,2010	2.2	2.23	5.7	68	15.9	71
08,04,2010	2.1	2.22	5.7	64	15.8	71
09,04,2010	2.1	2.19	5.6	66	15.6	71
12,04,2010	2.1	2.21	5.6	69	15.8	71
13,04,2010	2.1	2.22	5.7	73.0	15.9	72.0
14,04,2010	2.1	2.20	5.6	64.0	15.8	72.0
15,04,2010	2	2.25	5.8	78	16.1	72
16,04,2010	2	2.2	5.7	70	15.8	72
21,04,2010	2.1	2.21	5.9	73	16	72
average-Media	**2.09**	**2.22**	**5.70**	**69.00**	**15.86**	**71.60**
stdev	0.0568	0.0178	0.0943	4.5947	0.1350	0.5164
Cv	2.7160	0.8016	1.6541	6.6590	0.8511	0.7212
UA	**0.0568**	**0.0178**	**0.0943**	**4.5947**	**0.1350**	**0.5164**
Incertitudine etalonare	0	0	0	0	0	0
stdev	0	0	0	0	0	0
Ubetal	0	0	0	0	0	0
Domeniu	1,6-2,4	2,11-2,41	5,3-6,1	52-92	13,8-17,8	66-74
Val tinta	2	2.26	5.7	72	15.8	70
a- limita inf	1.6	2.11	5.3	52	13.8	66
a+limita sup	2.4	2.41	6.1	92	17.8	74
a+-a- Interval	**0.8**	**0.3**	**0.8**	**40.0**	**4.0**	**8.0**
Ubref- 12 RECT	**0.2309**	**0.0866**	**0.2309**	**11.5470**	**1.1547**	**2.3094**
suma patrate 2	0.0032	0.0003	0.0089	21.1111	0.0182	0.2667
UC 2	**0.0568**	**0.0178**	**0.0943**	**4.5947**	**0.1350**	**0.5164**
UE 2	**0.1135**	**0.0355**	**0.1886**	**9.1894**	**0.2700**	**1.0328**
BIAS%	4.5000	-1.9469	0.0000	-4.1667	0.3797	2.2857

Executant

??? SRL

t: Analizor automat de hematologie ????????? Seria

MCH	MCHC	RDW	MPV
25.7	35.9	13.7	9.3
25.4	35.8	14.1	10
25.7	36.1	14.0	9.5
25.8	36.2	13.8	9.7
25.4	35.5	14	9.9
25.6	35.8	14.3	10.0
25.6	35.7	14.1	9.7
25.7	35.9	14.3	9.6
25.9	36.1	14.2	9.9
26.5	36.7	13.6	9.7
25.73	**35.97**	**14.01**	**9.73**
0.3129	0.3302	0.2424	0.2263
1.2160	0.9179	1.7305	2.3260
0.3129	**0.3302**	**0.2424**	**0.2263**
0	0	0	0
0	0	0	0
0	0	0	0
23,2-27,2	33-39	11,9-17,9	6,9-12,9
25.2	36	14.9	9.9
23.2	33	11.9	5.8
27.2	39	17.9	11.8
4.0	**6.0**	**6.0**	**6.0**
1.1547	**1.7321**	**1.7321**	**1.7321**
0.0979	0.1090	0.0588	0.0512
0.3129	**0.3302**	**0.2424**	**0.2263**
0.6257	**0.6603**	**0.4849**	**0.4526**
2.1032	-0.0833	-5.9732	-1.7172

Sef laborator

SC ????????? SRL
Echipament: Analizor auto

Hematologie Nivel Low (Bas)
Lot ?????? Exp. ????

Data	WBC	RBC	HGB	PLT	HCT	MCV	MCH
06,04,2010	8.1	4.46	13.5	243	37.1	83.0	30.3
07,04,2010	8.1	4.55	13.7	240	37.7	83.0	30.1
08,04,2010	8.1	4.55	13.6	234	37.8	83.0	29.8
09,04,2010	8.1	4.60	13.8	246	38.2	83.0	30.0
12,04,2010	8.2	4.64	13.6	238	38.4	83.0	29.3
13,04,2010	8.0	4.66	13.8	242	38.5	83.0	29.6
14,04,2010	8.0	4.67	13.8	250	38.7	83.0	29.5
15,04,2010	8.2	4.55	13.7	239	37.6	83.0	30.0
16,04,2010	8.2	4.65	13.8	237	38.5	83.0	29.7
21,04,2010	8.0	4.61	13.9	245	38.3	83.0	30.1
average-Media	**8.1**	**4.6**	**13.7**	**241.4**	**38.1**	**83.0**	**29.8**
stdev	0.0816	0.0662	0.1229	4.7656	0.5073	0.0000	0.3134
Cv	1.0080	1.4410	0.8960	1.9742	1.3321	0.0000	1.0503
UA	**0.0816**	**0.0662**	**0.1229**	**4.7656**	**0.5073**	**0.0000**	**0.3134**

mat de hematologie ????????? Seria

MCHC	RDW	MPV
36.5	12.0	8.7
36.3	11.9	8.4
36.0	12.2	8.7
36.1	12.1	8.7
35.4	12.3	8.7
35.7	12.1	8.8
35.6	12.2	8.7
36.3	12.1	8.8
35.9	12.2	8.7
36.2	11.9	8.6
36.0	**12.1**	**8.7**
0.3496	0.1333	0.1135
0.9711	1.1019	1.3079
0.3496	**0.1333**	**0.1135**

SC ????????? SRL
Echipament: Analizor aut

Hematologie Nivel Low (Bas)
Lot ?????? Exp. ????

Data	WBC	RBC	HGB	PLT	HCT	MCV	MCH
06,04,2010	21.6	5.50	17.6	482	49.5	90.0	32.1
07,04,2010	21.6	5.58	17.8	491	50.2	90.0	32.0
08,04,2010	21.6	5.62	17.8	499	50.3	89.0	31.7
09,04,2010	22.1	5.57	17.8	478	50.1	90.0	31.9
12,04,2010	21.7	5.45	17.5	489	49.0	90.0	32.2
13,04,2010	21.8	5.56	17.8	484	50.1	90.0	32.1
14,04,2010	21.4	5.55	17.7	487	49.9	90.0	31.9
15,04,2010	21.9	5.53	17.8	487	49.8	90.0	32.2
16,04,2010	21.9	5.56	17.9	485	50.3	90.0	32.2
average-Media	**21.73**	**5.55**	**17.74**	**486.9**	**49.9**	**89.9**	**32.0**
stdev	0.2121	0.0490	0.1236	5.9465	0.4285	0.3333	0.1732
Cv	0.9761	0.8832	0.6966	1.2213	0.8585	0.3708	0.5407
UA	**0.2121**	**0.0490**	**0.1236**	**5.9465**	**0.4285**	**0.3333**	**0.1732**
Incertitudine etalonare	0	0	0	0	0	0	0
UBetal	0	0	0	0	0	0	0
Domeniu	19,1-22,3	5,43-5,83	17,2-18,4	465-555	47-52	83-91	29,6-33,6
Val tinta	20.7	5.63	17.8	510	49	87	31.6
a- limita inf	19.1	5.43	17.2	465	47	83	29.6
a+limita sup	22.3	5.83	18.4	555	52	91	33.6
a+-a- Interval	**3.2**	**0.4**	**1.2**	**90**	**5.0**	**8**	**4.0**
Ubref- 12 RECTANG	**0.9238**	**0.1155**	**0.3464**	**25.9808**	**1.4434**	**2.3094**	**1.1547**
suma patrate 2	0.0450	0.0024	0.0153	35.3611	0.1836	0.1111	0.0300
UC 2	**0.2121**	**0.0490**	**0.1236**	**5.9465**	**0.4285**	**0.3333**	**0.1732**
UE 2	**0.4243**	**0.0980**	**0.2472**	**11.8930**	**0.8570**	**0.6667**	**0.3464**
BIAS%	4.9919	-1.4802	-0.3121	-4.5316	1.8594	3.3206	1.3713

Executant

tomat de h

MCHC
35.7
35.6
35.5
35.4
35.8
35.6
35.5
35.7
35.6
35.6
0.1225
0.3440
0.1225
0
0
33,3-39,3
36.3
33.3
39.3
6.0
1.7321
0.0150
0.1225
0.2449
-1.9284

Laborator Medical

Ser control: ?????? -N
Biochimie Nivel Normal **Echipament: Analizor automat bio**
Lot ????? Expiră la ?????

Proba	Uree	Calciu	Creatinina	Gamma GT	ALP	Trigliceride	Fe	Acid uric	Glucoza	ALT GPT
1	41.6	8.5	1.1	36.9	176.4	116.4	118.0	5.75	96.53	43.5
2	41.3	8.3	1.11	33.4	178.0	118.3	118.6	5.95	96.15	40
3	40.5	8.7	1.09	36.2	179.5	117.8	118.4	5.99	97.63	39.7
4	39.8	8.5	1.09	34.5	184.3	116.3	117.0	6.15	96.86	42.4
5	40.3	8.3	1.1	36.1	179.2	116.5	119.0	6.25	98.39	42.8
6	41.6	8.2	1.11	33.2	178.3	116.9	119.2	6.35	98.99	43.1
7	41.3	8.4	1.12	36.4	185.0	117.3	120.0	6.25	98.68	43.5
8	41.5	8.6	1.11	34.8	176.4	116.6	118.8	6.35	97.82	43.5
9	41.6	8.5	1.11	36.4	178.6	117.6	120.4	6.33	97.31	42.7
10	41.6	8.3	1.1	36.3	179.0	116.3	121.6	6.35	97.93	43.5
average-Med	**41.11**	**8.43**	**1.104**	**35.42**	**179.47**	**117**	**119.1**	**6.17**	**97.629**	**42.47**
stdev	0.6607	0.1567	0.0097	1.3415	2.9315	0.7102	1.3004	0.2090	0.9280	1.4369
Cv	1.6072	1.8589	0.8751	3.7873	1.6334	0.6070	1.0919	3.3864	0.9506	3.3832
UA	**0.661**	**0.157**	**0.010**	**1.341**	**2.931**	**0.710**	**1.3004**	**0.209**	**0.9280**	**1.437**
Incertitudine etalonare	3.95		0.35						22.4	
UBet	**1.98**	**0**	**0.175**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**11.2**	**0**
Domeniu	33,7 - 45,6	7,12 - 9,06	0,82 - 1,18	30,3 - 43,5	135 -195	102 - 141	95 - 137	5,51 - 7,53	75,7 - 102,4	35,8 - 51,5
Val tinta	39.6	8.09	1	36.9	165	121	116	6.52	89	43.7
a- limita inf	33.7	7.12	0.82	30.3	135	102	95	5.51	75.7	35.8
a+limita sup	45.6	9.06	1.18	43.5	195	141	137	7.53	102.4	51.5
a+-a- Interva	**11.9**	**1.9**	**0.4**	**13.2**	**60.0**	**39.0**	**42.0**	**2.0**	**26.7**	**15.7**
UBRef	**3.4352**	**0.5600**	**0.1039**	**3.8105**	**17.3205**	**11.2583**	**12.1244**	**0.5831**	**7.7076**	**4.5322**
suma patrate	1705.734	71.379	1.260	1269.096	32509.481	13815.750	14331.810	38.434	9716.269	1824.242
UC	**41.3005**	**8.4486**	**1.1226**	**35.6244**	**180.3039**	**117.5404**	**119.7155**	**6.1995**	**98.5711**	**42.7111**
UE	**82.6011**	**16.8972**	**2.2452**	**71.2488**	**360.6077**	**235.0808**	**239.4311**	**12.3990**	**197.1423**	**85.4223**
BIAS%	3.8131	4.2027	10.4000	-4.0108	8.7697	-3.3058	2.6724	-5.3374	9.6955	-2.8146

Laborator Medical

Ser control: ?????? -N
Biochimie Nivel Normal **Echipament**
Lot ????? Expiră la ?????

Proba	Uree	Calcium	Creatinina	Gamma GT	ALP	Trigliceride	Fe	Acid uric
1	155.3	12.2	3.87	189.0	434.0	209.7	167.0	10.90
2	154.2	12.3	3.8	189.0	436.0	209.5	181.0	10.00
3	155.2	12.7	3.88	193.0	438.0	208.1	172.0	9.90
4	154.6	12.3	3.81	201.0	440.0	206	176.0	9.60
5	154.3	12.5	3.87	205.0	448.0	207.2	178.0	11.00
6	155.2	12.3	3.82	195.0	452.0	207.4	182.0	10.90
7	155.3	12.7	3.87	196.0	453.0	208.8	184.0	10.00
8	154.1	12.5	3.87	198.0	457.0	205	176.0	10.80
9	154.3	12.3	3.86	196.0	442.0	206.1	174.0	10.90
10	154.2	12.3	3.82	198.0	439.0	200.7	190.0	11.00
average-Med	**154.67**	**12.41**	**3.85**	**196.0**	**443.9**	**205.5**	**178**	**10.5**
stdev	0.5165	0.1792	0.0306	4.9666	7.9924	0.7071	6.5490	0.5518
Cv	0.3339	1.4440	0.7946	2.5340	1.8005	0.3441	3.6792	5.2549
UA	**0.517**	**0.179**	**0.031**	**4.967**	**7.992**	**0.707**	**6.5490**	**0.552**
Incertitudine etalonare	12.4		0.35					
UBetal	**6.2**	**0**	**0.175**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**
Domeniu	135 - 183	11,7 - 14,8	2,78 - 4,00	152 - 218	365 - 525	164 - 226	137 - 197	8,8 - 11,9
Val tinta	159	13.2	3.39	185	445	195	167	10.3
a- limita inf	135	11.7	2.78	152	365	164	137	8.8
a+limita sup	183	14.8	4.00	218	525	226	197	11.9
a+-a- Interva	**48.0**	**3.1**	**1.2**	**66.0**	**160.0**	**62.0**	**60.0**	**3.1**
UBref	**13.8564**	**0.8949**	**0.3522**	**19.0526**	**46.1880**	**17.8979**	**17.3205**	**0.8949**
suma patrate	24153.25	154.81	14.95	38779.00	199180.54	42550.58	31984.00	111.05
UC	**155.4132**	**12.4422**	**3.8670**	**196.9238**	**446.2965**	**206.2779**	**178.8407**	**10.5381**
UE	**310.8263**	**24.8844**	**7.7341**	**393.8477**	**892.5929**	**412.5559**	**357.6814**	**21.0761**
BIAS%	-2.7233	-5.9848	13.4808	5.9459	-0.2472	5.3846	6.5868	1.9417

RSD-Abatere standard relativa=Cv-coeficient de variatie %
RSD=Cv=stdev / Xmed=s / Xmed
RSD%=Cv%=stdev / Xmedx100=s / Xmedx100 %
SQORT-Radical
SUMSQ-suma de patrate
*-puterea 2
AVERAGE-media

Laborator Medical

Ser control: ?????? -N
Biochimie Nivel Normal
Lot ????? Expiră la ?????

Proba	Uree	Calciu	Creatinina	Gamma GT	ALP	Trigliceride	Fe
1	10.40	2.12	0.27	9.22	44.1	29.10	29.5
2	10.30	2.07	0.27	8.35	44.5	29.5	29.6
3	10.12	2.17	0.27	9.05	48.8	29.45	29.6
4	9.90	2.12	0.27	8.62	46.0	29.07	29.2
5	10.07	2.07	0.27	9.02	44.8	29.12	29.7
6	10.40	2.05	0.27	8.30	44.5	29.22	29.8
7	10.30	2.10	0.28	9.10	46.2	29.32	30.0
8	10.30	2.15	0.27	8.70	44.1	29.15	29.7
9	10.50	2.12	0.27	9.10	44.6	29.4	30.1
10	10.70	2.07	0.27	9.07	44.8	29.07	30.4
average-Mec	**10.30**	**2.10**	**0.27**	**8.85**	**45.24**	**29.24**	**29.76**
stdev	0.2274	0.0389	0.0032	0.3345	1.4401	0.1647	0.3373
Cv	2.2077	1.8503	1.1669	3.7784	3.1832	0.5631	1.1334
UA	**0.2274**	**0.039**	**0.0032**	**0.334**	**1.440**	**0.1647**	**0.3373**
Incertitudine etalonare	3.95		0.35				
UBet	**1.975**	**0**	**0.175**	**0**	**0**	**0**	**0**
Domeniu	33,7 - 45,(	7,12 - 9,06	0,82 - 1,18	30,3 - 43,5	135 -195	102 - 141	95 - 137
Val tinta	39.6	8.09	1	36.9	165	121	116
a- limita inf	33.7	7.12	0.82	30.3	135	102	95
a+limita sup	45.6	9.06	1.18	43.5	195	141	137
a+-a- Interva	**11.9**	**1.9**	**0.4**	**13.2**	**60.0**	**39.0**	**42.0**
UBRef	**3.4352**	**0.5600**	**0.1039**	**3.8105**	**17.3205**	**11.2583**	**12.1244**
suma patrate	3.9523	0.0015	0.0306	0.1119	2.0738	0.0271	0.1138
UC	**1.9880**	**0.0389**	**0.1750**	**0.3345**	**1.4401**	**0.1647**	**0.3373**
UE	**3.9761**	**0.0779**	**0.3501**	**0.6690**	**2.8801**	**0.3293**	**0.6746**
BIAS%	-73.9924	-73.9926	-72.9000	-76.0081	-72.5818	-75.8347	-74.3448

Echipament: Analizor automat biochimie ????? seria ?????

Acid uric	Glucoza	ALT GPT	AST GOT	Cholesterol	Magneziu	HDL	LDL
2.25	24.13	10.87	11.5	28.0	0.55	8.68	
2.15	24.03	10.0	11.17	23.5	0.6	7.33	
2.35	24.40	9.92	11.32	23.9	0.6	7.97	
2.40	24.21	10.6	11.2	24.4	0.6	7.70	
2.20	24.59	10.7	11.15	24.5	0.62	8.08	
2.30	24.74	10.7	11.17	27.5	0.57	8.92	
2.35	24.67	10.8	11.17	24.2	0.6	7.70	
2.15	24.45	10.8	11.25	24.7	0.57	9.65	
2.20	24.32	10.6	11.2	24.5	0.6	7.85	
2.25	24.48	10.7	11.15	24.8	0.57		
2.26	**24.4**	**10.57**	**11.23**	**25.0**	**0.59**	**8.2**	
0.0876	0.2323	0.3326	0.1089	1.5033	0.0215	0.7329	
3.8743	0.9521	3.1471	0.9700	6.0133	3.6564	8.9283	
0.088	**0.232**	**0.3326**	**0.1089**	**1.5033**	**0.0215**	**0.7329**	
	22.4				0.15	**0.0**	
0	**11.2**	**0**	**0**	**0**	**0.075**	0.0	
5,51 - 7,53	75,7 - 102,4	35,8 - 51,5	35,5 - 51	84,4 - 114,1	1,97 - 2,51	26,5-35,8	
6.52	89	43.7	43.3	99.2	2.2	31.1	
5.51	75.7	35.8	35.5	84.4	1.97	26.5	
7.53	102.4	51.5	51	114.1	2.51	35.8	
2.0	**26.7**	**15.7**	**15.5**	**29.7**	**0.5**	**9.3**	
0.5831	**7.7076**	**4.5322**	**4.4745**	**8.5737**	**0.1559**	**2.6847**	
0.0077	125.4940	0.1106	0.0119	2.2600	0.0061	0.5372	
0.0876	**11.2024**	**0.3326**	**0.1089**	**1.5033**	**0.0780**	**0.7329**	
0.1751	**22.4048**	**0.6652**	**0.2178**	**3.0067**	**0.1560**	**1.4658**	
-65.3374	-72.5820	-75.8146	-74.0693	-74.7984	-73.2727	-74.7588	

Laborator Medical

Ser control: ?????? -N
Biochimie Nivel Normal **Echipament: Analizor automat biochimie ????? seria ?????**
Lot ????? Expiră la ?????

Data	Uree	CAL	CREAT	TRIG	FIER	UA	Glucoza	TGP	TGO	COL	MG	GGT	ALP	HDL
01.04.2011	48.1	8.8	1.07	119.0	124.5	4.9	99	41.3	43	99.2	2.3	46.0	169.8	34.73
06.04.2011	45.6	8.3	0.89	107.4	112.6	4.4	96	37.7	41	96.1	2.0	40.5	164.8	29.34
08.04.2011	42.6	8.5	0.86	94.4	116.0	4.3	93	36.9	41	90.1	2.1	39.1	151.4	31.88
13.04.2011	44.5	8.3	0.92	105.2	114.1	4.2	93	38.0	41	92.7	2.0	40.3	157.6	30.81
15.04.2011	46.2	8.5	0.79	104.4	114.3	4.3	95	37.2	40	92.7	2.0	41.2	156.7	32.32
20.04.2011	43.9	8.4	0.96	102.9	110.8	5.0	90	41.7	50	107.8	2.3	47.5	156.7	35.68
22.04.2011	44.9	8.8	0.92	105.9	111.1	4.3	95	37.2	43	99.5	2.2	39.8	160.1	30.8
27.04.2011	45.6	8.2	0.98	103.4	120.1	4.3	94	37.1	43	89.1	2.0	42.7	165.7	42.7
29.04.2011	44.1	8	0.87	104.3	114.2	4.3	95	36.8	41	89.3	2.0	44.2	160.7	31.41
average-Media	**45.1**	**8.4**	**0.9**	**105.2**	**115.3**	**4.4**	**94.4**	**38.2**	**42.6**	**95.2**	**2.1**	**42.4**	**160.4**	**33.3**
stdev	1.5725	0.2635	0.0803	6.3481	4.4300	0.2920	2.4552	1.9042	3.0046	6.1703	0.1323	2.9453	5.6148	4.0427
Cv	3.4902	3.1289	8.7469	6.0337	3.8422	6.5705	2.5996	4.9835	7.0605	6.484	6.2994	6.9520	3.501	12.1416
UA	**1.5725**	**0.2635**	**0.0803**	**6.3481**	**4.4300**	**0.2920**	**2.4552**	**1.9042**	**3.0046**	**6.1703**	**0.1323**	**2.9453**	**5.6148**	**4.0427**
Incertitudine etalonare	**7.9**	**0.0**	0.35	**0.0**	**0.0**	**0.0**	**22.4**	**0.0**	**0.0**	**0.0**	**0.21**	**0.0**	**0.0**	**0.0**
UBetal	3.95	0.00	0.175	0.0	0.0	0.0	11.20	0.0	0.0	0.0	0.11	0.0	0.0	0.0
Ucalib.	1.35	0.0209	0.0377	0.617	9.50	0.0325	1.63	0.92	1.08	2.27	0.0176	2.91	4.05	
Ucalib. 1/2	**0.675**	**0.010**	**0.019**	**0.309**	**4.750**	**0.016**	**0.815**	**0.460**	**0.540**	**1.135**	**0.009**	**1.455**	**2.025**	
Domeniu	38,1-51,5	7,28 - 9,26	0,76 - 1,1	92 - 126	91 - 131	3,79 -5,12	80,8- 109,4	34,7- 49,9	35,8 - 51,6	80 - 108,1	1,86 - 2,37	34,8 -50	132 -189	26,5-35,8
Val tinta	44.8	8.27	0.93	109	111	4.45	95.1	42.3	43.7	94.1	2.12	42.4	161	31.1
a- limita inf	38.1	7.28	0.76	92	91	3.79	80.8	34.7	35.8	80	1.86	34.8	132	26.5
a+limita sup	51.5	9.26	1.1	126	131	5.12	109.4	49.9	51.6	108.3	2.37	50	189	35.8
a+-a- interval	**13.4**	**2.0**	**0.3**	**34.0**	**40.0**	**1.3**	**28.6**	**15.2**	**15.8**	**28.3**	**0.5**	**15.2**	**57.0**	**9.3**
Ubref- 12 REC	**3.8682**	**0.5716**	**0.0981**	**9.8150**	**11.5470**	**0.3839**	**8.2561**	**4.3879**	**4.5611**	**8.1695**	**0.1472**	**4.3879**	**16.4545**	**2.6847**
suma patrate	18.5309	0.0696	0.0374	40.3938	42.1875	0.0855	132.1320	3.8377	9.3194	39.3607	0.0286	10.7920	35.6267	16.3437
UC 2	**4.3048**	**0.2637**	**0.1935**	**6.3556**	**6.4952**	**0.2925**	**11.4949**	**1.9590**	**3.0528**	**6.2738**	**0.1691**	**3.2851**	**5.9688**	**4.0427**
UE 2	**8.6095**	**0.5275**	**0.3869**	**12.7112**	**12.9904**	**0.5850**	**22.9897**	**3.9180**	**6.1055**	**12.5476**	**0.3382**	**6.5702**	**11.9376**	**8.0855**
BIAS%	0.5704	1.8407	-1.3142	-3.4760	3.8739	-0.1248	-0.6893	-9.6664	-2.6189	1.1335	-0.9434	-0.0786	-0.3796	7.0632

Responsabil Analiza Sef laborator

LDL

Laborator Medical

Ser control: ?????? -N
Biochimie Nivel Normal
Lot ????? Expiră la ?????

Data	Uree	CAL	CREAT	TRIG	FIER	UA	Glucoza
01.04.2011	146.5	12.40	3.77	207.1	222.9	10.4	268
06.04.2011	145.7	12.10	3.76	190.8	219.4	10.6	267
08.04.2011	141.9	12.30	3.33	185.2	221.3	10.3	263
13,04,2011	145.1	12.30	3.8	203.2	220.3	10.6	266
15.04.2011	144.5	12.60	3.37	205.2	246.8	10.6	271
20.04.2011	153.8	12.70	4.42	208.5	245.7	10.0	265
22.04.2011	147.2	12.70	3.61	203.3	248.8	10.4	267
27.04.2011	148	11.80	3.81	207.4	224.8	10.6	264
29.04.2011	147.7	11.70	3.58	205.2	238.9	10.6	262
average-Media	**146.7**	**12.3**	**3.7**	**201.8**	**232.1**	**10.5**	**265.9**
stdev	3.2563	0.3655	0.3191	8.1257	12.6554	0.2068	2.7588
Cv	2.2195	2.9745	8.5867	4.0273	5.4526	1.9782	1.0376
UA	**3.2563**	**0.3655**	**0.3191**	**8.1257**	**12.6554**	**0.2068**	**2.7588**
Incertitudine etalonare	3.95	**0.0**	**0.7**	**0.0**	**0.0**	**0.0**	**44.6**
UBetal	1.98	0.0	0.35	0.0	0.0	0.0	22.3
Domeniu	124 - 168	11,3 - 14,4	3,11 - 4,47	183-253	202-291	8.20-11.20	215-291
Val tinta	146	12.8	3.79	218	247	9.7	253
a- limita inf	124	11.3	3.11	183	202	8.20	215
a+limita sup	168	14.4	4.47	253	291	11.20	291
a+-a- Interval	**44.0**	**3.1**	**1.4**	**70**	**89.0**	**3.0**	**76.0**
Ubref- 12 REC	**12.7017**	**0.8949**	**0.3926**	**20.2073**	**25.6921**	**0.8660**	**21.9393**
suma patrate	14.5042	0.1336	0.2244	66.0275	160.1600	0.0428	504.9011
UC 2	**3.8084**	**0.3655**	**0.4737**	**8.1257**	**12.6554**	**0.2068**	**22.4700**
UE 2	**7.6169**	**0.7311**	**0.9473**	**16.2515**	**25.3109**	**0.4137**	**44.9400**
BIAS%	0.4871	-3.9931	-1.9349	-7.4465	-6.0324	7.7892	5.0944

Responsabil Analiza

Sef laborator

Echipament: Analizor automat biochimie ????? seria ?????

TGP	TGO	COL	MG	GGT	ALP	HDL	LDL
119.8	134	177.6	4.1	195.6	386.9	69.34	
117.3	135	180.2	4.4	181.0	391.4	74.7	
117.0	135	177.2	3.8	184.3	375.6	68.4	
119.5	134	181.1	4.5	193.6	395.8	71.3	
117.0	134	183	3.7	196.3	388.8	70.94	
115.3	133	171.6	3.7	199.9	389.2	69.89	
118.5	136	179.6	4.1	195.1	392.1	73.16	
118.2	137	175.8	4.1	197.1	406.2	73.43	
117.5	134	173.9	4.1	200.3	398.7	70.62	
117.8	**134.7**	**177.8**	**4.1**	**193.7**	**391.6**	**71.3**	
1.3878	1.2247	3.6224	0.2833	6.6666	8.4645	2.0733	
1.1782	0.9095	2.0376	6.9863	3.4419	2.1613	2.9074	
1.3878	**1.2247**	**3.6224**	**0.2833**	**6.6666**	**8.4645**	**2.0733**	
0.0	**0.0**	**0.0**	**0.5**	**0.0**	**0.0**	**0.0**	
0.0	0.0	0.0	0.25	0.0	0.0	0.0	
96-137	111-160	152-205	3,69-4,7	159-229	329-473	61,2-82,8	
116	136	179	4.19	194	401	72	
95	111	152	3.69	159	329	61.20	
137	160	205	4.7	229	473	83	
42.0	**49.0**	**53.0**	**1.0**	**70.0**	**144.0**	**21.6**	
12.1244	**14.1451**	**15.2998**	**0.2916**	**20.2073**	**41.5692**	**6.2354**	
1.9261	1.5000	13.1219	0.1428	44.4436	71.6475	4.2984	
1.3878	**1.2247**	**3.6224**	**0.3779**	**6.6666**	**8.4645**	**2.0733**	
2.7757	**2.4495**	**7.2448**	**0.7557**	**13.3332**	**16.9290**	**4.1465**	
1.5421	-0.9804	-0.6828	-3.2087	-0.1604	-2.3358	-0.9599	

SC ????? SRL

Plasma de control:

Coagulare Nivel Normal

Lot ?????? Expiră la ?????producător TECO Echipament: Coagulometru ????seria ?????

Proba	TQ	INR
1	13.40	0.99
2	13.60	0.97
3	13.60	1.01
4	13.70	0.99
5	13.50	0.98
6	13.40	0.99
7	13.70	1.00
8	13.70	0.99
9	13.40	0.98
10	13.50	0.99
average-Media	**13.55**	**0.99**
stdev	0.1269	0.0110
Cv	0.9367	1.1127
UA	**0.1269**	**0.0110**
Incertitudine etalonare	0	0
UBetal	0	0
Domeniu	12,3-18,9	0,79-1,27
Val tinta	15.2	1.01
a- limita inf	12.3	0.79
a+limita sup	18.9	1.27
a+-a- Interval	**6.6**	**0.5**
Ubref- 12 RECTANG	**1.9053**	**0.1386**
suma patrate 2	3.6461	0.0193
UC 2	**1.9095**	**0.1390**
UE 2	**3.8190**	**0.2780**
Scorul z	-0.5000	-0.0875
BIAS%	-10.8553	-2.0792

SC ????? SRL

Plasma de control:

Coagulare Nivel Normal

Lot ?????? Expiră la ?????producător TECO Echipament: Coagulometru ???? Echipamer

Proba	TQ	INR
1	35.70	2.44
2	35.70	2.44
3	35.40	2.41
4	35.40	2.41
5	35.70	2.44
6	35.30	2.40
7	35.40	2.44
8	35.80	2.41
9	35.70	2.41
10	35.30	2.45
average-Media	**35.54**	**2.43**
stdev	0.1955	0.0184
Cv	0.5501	0.7591
UA	**0.1955**	**0.0184**
Incertitudine etalonare	0	0
UBetal	0	0
Domeniu	27,3-44,6	2,02-3,25
Val tinta	35.4	2.41
a- limita inf	27.3	2.02
a+limita sup	44.6	3.25
a+-a- Interval	**17.3**	**1.2**
Ubref- 12 RECTAN	**4.9941**	**0.3551**
suma patrate 2	24.9791	0.1264
UC 2	**4.9979**	**0.3555**
UE 2	**9.9958**	**0.7111**
Scorul z	0.0162	0.0244
BIAS%	0.3955	0.6224

SC ????? SRL

Plasma de control:

Coagulare Nivel Normal

Lot ?????? Expiră la ?????producător TECO Echipament: Coagulometru ???

Proba	TQ	INR
1	3.35	0.24
2	3.34	0.24
3	3.34	0.25
4	3.42	0.24
5	3.33	0.24
6	3.35	0.24
7	3.40	0.25
8	3.40	0.24
9	3.34	0.24
10	3.32	0.24
average-Media	**3.36**	**0.24**
stdev	0.0345	0.0042
Cv	1.0260	1.7423
UA	**0.0345**	**0.0042**
Incertitudine etalonare	0	0
UBetal	0	0
Domeniu	12,3-18,9	0,79-1,27
Val tinta	15.2	1.01
a- limita inf	12.3	0.79
a+limita sup	18.9	1.27
a+-a- Interval	**6.6**	**0.5**
Ubref- 12 REC	**1.9053**	**0.1386**
suma patrate	3.6312	0.0192
UC 2	**1.9056**	**0.1386**
UE 2	**3.8111**	**0.2773**
BIAS%	-77.9013	-76.0396

SC ????? SRL

Plasma de control:

Coagulare Nivel Normal

Lot ?????? Expiră la ?????producător TECO Echipament: Coagulometru ????seria ????????

DATA	TIMP QUICK(SEC)	INR
03,01,2011	12.5	0.89
04,01,2011	16.2	1.03
05,01,2011	15.3	0.97
07,01,2011	17.6	0.99
10,01,2011	15.2	1.02
11,01,2011	13.5	1.01
12,01,2011	14.6	0.96
13,01,2011	15.1	0.86
14,01,2011	14.8	1.03
17,01,2011	16.3	0.97
average-Media	**15.1**	**0.97**
SD	1.4379	0.0579
Cv	9.5165	5.9544
UA	**1.4379**	**0.0579**
Incertitudine etalonare	0	0
UBetal	0	0
Domeniu	12,3-18,9	0,79-1,27
Val tinta	15.2	1.01
a- limita inf	12.3	0.79
a+limita sup	18.9	1.27
a+-a- Interval	**6.6**	**0.48**
Ubref- 12 RECTA	**1.9053**	**0.1386**
suma patrate 2	2.0677	0.0034

UC 2	**1.4379**	**0.0579**
UE 2	**2.8759**	**0.1159**
Scorul z	-0.0273	-0.1542
BIAS%	-0.5921	-3.6634

SC ????? SRL

Plasma de control:

Coagulare Nivel Normal

Lot ?????? Expiră la ?????producător TECO Echipament: Coagulometru ????seria ????????

DATA	TIMP QUICK(SEC)	INR
03,01,2011	36.50	2.59
04,01,2011	27.60	2.47
05,01,2011	40.30	2.41
07,01,2011	41.60	3.20
10,01,2011	39.50	3.11
11,01,2011	37.30	2.41
12,01,2011	39.20	2.56
13,01,2011	35.50	2.44
14,01,2011	38.60	2.17
17,01,2011	41.20	3.10
average-Media	**37.73**	**2.6**
SD	4.0683	0.3575
Cv	10.7827	13.5109
UA	**4.0683**	**0.3575**
Incertitudine etalonare	0	0
UBetal	0	0
Domeniu	27,3-44,6	2,02-3,25
Val tinta	35.4	2.41
a- limita inf	27.3	2.02
a+limita sup	44.6	3.25
a+-a- Interval	**17.3**	**1.2**
Ubref- 12 RECTA	**4.9941**	**0.3551**
suma patrate 2	16.5512	0.1278

UC 2	**4.0683**	**0.3575**
UE 2	**8.1366**	**0.7150**
Scorul z	0.2694	0.3837
BIAS%	6.5819	9.7925